



# 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

## ЗАВДАННЯ

### НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

ШКІЛЬ Тетяни Олегівни

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Одержання біомаси *Propionibacterium freundenreichii* як компонента пшеничних заквасок  
керівник роботи БУЦЕНКО Людмила Миколаївна, д.б.н., проф.,  
( 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 Продукт: біомаса. Продуцент: *Propionibacterium freundenreichii*. Об'єм ферментера: 100 л. Коефіцієнт заповнення: 0,7.
4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) Характеристика цільового продукту біосинтезу – *Propionibacterium freundenreichii* як компонента пшеничної закваски. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента. Техніко-економічне обґрунтування закваски. Біосинтез цільової біомаси для одержання закваски. Обґрунтування вибору технологічної схеми. Специфікація обладнання. Опис технологічної схеми синтезу біомаси для закваски. Етапи виділення та очищення цільової біомаси. Контроль виробництва біомаси для отримання закваски
5. Перелік графічного матеріалу Апаратурна схема формату А2 (1 лист). Технологічна схема формату А2 (1 лист).

## 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 біосинтезу – <i>Propionibacterium freudenreichii</i> як компонента пшеничної закваски	01.03.25 – 09.03.25	
2.	Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента	10.03.25 – 19.03.25	
3.	Техніко-економічне обґрунтування закваски	20.03.25- 08.04.25	
4.	Біосинтез цільової біомаси для одержання закваски	08.04.25- 12.04.25	
5.	Обґрунтування вибору технологічної схеми	13.04.25 – 16.04.25	
6.	Специфікація обладнання	17.04.25 – 25.04.25	
7.	Опис технологічної схеми синтезу біомаси для закваски	26.04.25 – 29.04.25	
8.	Етапи виділення та очищення цільової біомаси	30.04.25 – 09.05.25	
9.	Контроль виробництва біомаси для отримання закваски	10.05.25 - 14.05.25	
10.	Графічна частина та оформлення роботи	15.05.25 - 28.05.25	

**Здобувач**

\_\_\_\_\_ (підпис)

**Тетяна ШКІЛЬ**

\_\_\_\_\_ (ім'я та прізвище)

**Керівник роботи**

\_\_\_\_\_ (підпис)

**Людмила БУЦЕНКО**

\_\_\_\_\_ (ім'я та прізвище)

## ABSTRACT

The qualification work is devoted to the development of a technological and hardware scheme for the production of biomass of propionic acid bacteria *Propionibacterium freudenreichii* for the baking industry. *P. freudenreichii* synthesizes propionic acid and other metabolites with antimicrobial activity, which allows to extend the shelf life of bakery products up to 5-7 days without the use of chemical preservatives.

The technological scheme includes auxiliary works (preparation of aeration air, milk pasteurization) and a technological process (two stages of growing seed material and production biosynthesis in a fermenter with a volume of 100 l). The calculated production capacity is 5500 liters of production starter per year, and the calculated need for bread is 45,000 kg.

A production control system has been developed, which includes microbiological control, monitoring of milk quality indicators. The method of milk preparation is justified.

Caustic soda and Biomoy were selected for washing the equipment, and Dezecon and Chlorantoin were chosen for treatment of production facilities. The post-fermentation stages involve obtaining liquid sourdough, which is used for bread production, and freeze-dried sourdough, which is sold in bottles.

The qualification work consists of an introduction, nine chapters and a list of sources used (68 references). The graphic part contains technological and equipment diagrams - A2 formats. The total volume of the work is 101 pages, 14 tables and 7 figures.

**Keywords:** *Propionibacterium freudenreichii*, biomass, bakery sourdough, biosynthesis.

## РЕФЕРАТ

Кваліфікаційну роботу присвячено розробленню технологічної та апаратурної схеми виробництва біомаси пропіоновокислих бактерій *Propionibacterium freudenreichii* для хлібопекарської промисловості. *P. Freudenreichii* синтезує пропіонову кислоту та інші метаболіти з антимікробною активністю, що дозволяє подовжити термін зберігання хлібобулочних виробів до 5-7 діб без використання хімічних консервантів.

Технологічна схема включає допоміжні роботи (підготовка аераційного повітря, пастеризація молока) та технологічний процес (дві стадій вирощування посівного матеріалу та виробничий біосинтез у ферментері об'ємом 100 л). Розрахована потужність виробництва становить 5500 літрів виробничої закваски на рік, а розрахована потреба в хлібі складає 45 000 кг.

Розроблено систему контролю виробництва, що включає мікробіологічний контроль, моніторинг показників якості молока. Обґрунтовано режим підготовки молока.

Для миття обладнання обрано каустичну соду та засіб Біомой, для обробки виробничих приміщень – Дезекон та Хлорантоїн. Післяферментаційні стадії передбачають отримання рідкої закваски, що йде на виробництво хліба, та висушеної ліофілізацією закваски, що йде на продаж у флаконах.

Кваліфікаційна робота складається зі вступу, дев'яти розділів та списку використаних джерел (68 посилань). Графічна частина містить технологічну та апаратурну схеми - формати А2. Загальний обсяг роботи – 101 сторінка, 14 таблиць і 7 рисунків.

**Ключові слова:** *Propionibacterium freudenreichii*, біомаса, хлібопекарські закваски, біосинтез.

## ЗМІСТ

ВСТУП .....	8
РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ БІОСИНТЕЗУ – <i>PROPIONIBACTERIUM FREUDENREICHII</i> ЯК КОМПОНЕНТА ПШЕНИЧНОЇ ЗАКВАСКИ.....	10
РОЗДІЛ 2. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА.....	12
2.1. Обґрунтування вибору продуцента для отримання закваски .....	12
2.2. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки <i>Propionibacterium freudenreichii</i> .....	19
2.3. Таксономічний статус <i>Propionibacterium freudenreichii</i> .....	20
РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАКВАСКИ ..	21
3.1. Потреба хлібопекарської галузі України у заквасках .....	21
3.2. Розрахунок потужності виробництва закваски на основі <i>Propionibacterium freudenreichii</i> .....	24
3.3. Розрахунок геометричного об'єму ферментера.....	25
3.4. Розрахунок кількості стадій отримання посівного матеріалу для ферментера 100.....	27
РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОЇ БІОМАСИ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ ЗАКВАСКИ.....	30
4.1. Катаболізм ростового субстрату у <i>Propionibacterium freundenreichii</i> .....	30
4.2. Біотрансформація ростового субстрату у біомасу <i>Propionibacterium freundenreichii</i> .....	31
РОЗДІЛ 5. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ.....	34
5.1. Обґрунтування способу культивування <i>Propionibacterium freundenreichii</i> як компонента пшеничних заквасок і типу ферментера ..	34
5.2. Обґрунтування стадій підготовки виробничого процесу для одержання біомаси <i>Propionibacterium freundenreichii</i> .....	37
5.3. Обґрунтування стадій санітарної підготовки виробництва та вибір мийних та дезінфікуючих засобів .....	40
5.3.1. Підготовка персоналу .....	40
5.3.2. Підготовка обладнання та інвентарю.....	42
5.3.3. Підготовка виробничих приміщень .....	43
5.4. Особливості приготування поживного середовища для вирощування <i>P. freundenreichii</i> з метою одержання закваски .....	53

5.4.1 Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища для одержання інокуляту у колбах на качалках.....	53
5.4.2. Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для одержання посівного матеріалу в інокуляторі 10 л.....	53
5.4.3. Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для виробничого біосинтезу у ферментері об'ємом 100 л.....	54
5.5. Обґрунтування вибору піногасника.....	55
РОЗДІЛ 6. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ .....	56
РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ СИНТЕЗУ БІОМАСИ ДЛЯ ЗАКВАСКИ.....	60
РОЗДІЛ 8. ЕТАПИ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ ЦІЛЬОВОЇ БІОМАСИ .....	65
РОЗДІЛ 9. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА БІОМАСИ ДЛЯ ОТРИМАННЯ ЗАКВАСКИ.....	69
9.1. Мікробіологічний контроль .....	69
9.2. Показники якості молока .....	70
9.3. Визначення кількості колонієутворюючих одиниць.....	72
9.4. Визначення кількості біомаси.....	73
9.5. Карта контролю виробництва біомаси .....	74
ЛІТЕРАТУРА .....	77
ДОДАТКИ.....	86

## ВСТУП

Хлібопекарська галузь постійно шукає нові методи подовження терміну зберігання продукції без використання хімічних консервантів. Пліснявіння хліба призводить до значних економічних втрат та може становити загрозу здоров'ю споживачів через накопичення мікотоксинів. Одним із перспективних рішень цієї проблеми є використання заквасок на основі пропіоновокислих бактерій, зокрема *Propionibacterium freudenreichii* [1, с. 88].

*P. freudenreichii* - це грам-позитивний мікроорганізм, який має статус GRAS (Generally Recognized As Safe) та широко використовується у харчовій промисловості. Ці бактерії здатні синтезувати пропіонову кислоту та інші метаболіти з антимікробною активністю, що ефективно пригнічують ріст пліснявих грибів у хлібобулочних виробках. Крім того, *P. freudenreichii* збагачує продукцію вітамінами групи В та покращує її органолептичні властивості.

Сучасні дослідження демонструють, що ефективність використання *P. freudenreichii* у складі заквасок значною мірою залежить від умов культивування та складу поживного середовища. Оптимізація цих параметрів дозволяє підвищити вихід біомаси та її антагоністичну активність проти пліснявих грибів. Новизна даної роботи полягає у розробці удосконаленої технології отримання біомаси *P. freudenreichii* з використанням модифікованого поживного середовища, що забезпечує підвищений синтез протигрибкових метаболітів [1].

					НУХТ БТЕК 04.03.15 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	Вступ	Літ.	Арк.	Аркушів
Розроб.		Шкіль Т.О.						
Перевір.		Буценко Л.М.					8	2
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

За результатами попередніх досліджень встановлено, що культивування *P. freudenreichii* на середовищі з оптимізованим співвідношенням джерел вуглецю та азоту дозволяє збільшити вихід біомаси на 25% порівняно з традиційними методами. Крім того, отримана біомаса характеризується підвищеною антагоністичною активністю проти основних збудників пліснявіння хліба - *Aspergillus*, *Penicillium* та *Fusarium*.

**Новизною курсового** проєкту є реалізація комплексної технології виробництва біомаси *P. freudenreichii* для хлібопекарської промисловості, що включає оптимізований процес біосинтезу на пастеризованому знежиреному молоці для забезпечення потреб крафтового невеликого виробництва.

## РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ БІОСИНТЕЗУ – *PROPIONIBACTERIUM FREUDENREICHII* ЯК КОМПОНЕНТА ПШЕНИЧНОЇ ЗАКВАСКИ

Хліб – це не просто їжа, це продукт, який протягом століть відіграє важливу роль в людському суспільстві. Він є одним із основних щоденних продуктів харчування. Його потреба ґрунтується на ряді факторів, що роблять його унікальним. Хліб є джерелом вуглеводів, які є основним джерелом енергії для організму людини. Також він містить білки, клітковину, вітаміни та мінерали, важливі для підтримки здоров'я.

Хліб дуже схильний до грибкового ураження, що призводить до зниження його якості та безпечності. Плісняві гриби спричиняють значне погіршення якості продукту та призводять до значних економічних втрат. Також плісняві гриби такі як: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Mucor* та *Rhizopus* виробляють мікотоксини, які є потенційно токсичними для споживачів і можуть спричинити хвороби та навіть смерть.

Для боротьби з пліснявою та мікотоксинами в хлібі використовують різні методи одним із них, використання мікробіоти з протигрибковою активністю. Мікробіота потрапляє до продукту через закваски.

Закваска - це напівфабрикат, який одержують зброджуванням води й борошняної суспензії молочнокислими бактеріями або дріжджами [2]. Класифікують закваски за різними характеристиками. За температурою використання на мезофільні, в яких мікроорганізми ростуть при кімнатній температурі (близько 20°C) та термофільні в яких культури найбільш активні за температури від 32 до 42°C, але можуть витримати й більш високі температури нагріву (до 65°C). Є так звані закваски направленої дії.

					НУХТ БТЕК 04.03.15 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Шкіль Т.О.			РОЗДІЛ 1. Характеристика цільового продукту біосинтезу – <i>Propionibacterium freudenreichii</i> як компонента пшеничної закваски	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Буценко Л.М.					10	3
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Це бездріжджова мезофільна, концентрована молочнокисла, пропіоновокисла, ацидофільна тощо. За типом мікроорганізмів поділяють на бактеріальні, дріжджові та змішані (які містять як бактерії, так і дріжджі). Однак є так звані закваски направленої дії. Це бездріжджові мезофільна, концентрована молочнокисла, пропіоновокисла, ацидофільна закваска [3].

Мікробні спільноти заквасок складаються з одного або двох видів дріжджів і до трьох молочнокислих бактерій. Більшість видів дріжджів для закваски є членами сімейства *Saccharomycetaceae* і належать до родів *Saccharomyces* і *Kazachstania*. Молочнокислі бактерії включають види з родів *Lactobacillus*, *Fructobacillus*, *Weissella*, *Leuconostoc* і *Pediococcus* [4]. Також можуть входити пропіоновокислі бактерії, які належать до сімейства *Propionibacteriaceae*, роду *Propionibacterium*.

Пропіоновокислі бактерії входять до складу пропіоновокислих заквасок, основою яких є *Propionibacterium freudenreichii*. *Propionibacterium freundenreichii* – це вид грампозитивних, нерухомих, неспороутворюючих бактерій, форма яких зазвичай є паличкоподібна, але визначається, як плеоморфна, тобто така, яка є непостійною. Форма і колір колоній є також відмінними у кожного індивіду. Колір колоній може бути: червоним, рожевим, помаранчевим, жовтим, сірим і білим. При рості на рідких середовищах, колонії формуються у формі гранул різного розміру.

Пропіоновокисла закваска характеризується 100% бактерицидною та фунгіцидною активністю, а також підвищеним вмістом вільних амінокислот, що, ймовірно, обумовлено високою протеолітичною активністю бактерій, що входять до неї.

Форма випуску пропіонобактерій для виробництва закваски може бути різною - ліофілізована, заморожена, концентрована і суха культура. Суха культура є найпоширенішою, бо вона легко трансформується та зберігається до 2 років. Суха форма біомаси більш поширена у використанні, ніж рідка закваска (може містити інші інгредієнти, такі як сухе молоко, лактоза, або ферменти) [5].

## РОЗДІЛ 2. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

### 2.1. Обґрунтування вибору продуцента для отримання закваски

Бродіння харчових продуктів бактеріями та дріжджами є загально прийнятою практикою, поширеною в усьому світі завдяки якості та покращення терміну зберігання хлібобулочних виробів. Різні молочнокислі бактерії, включаючи пропіоновокислі бактерії (сімейство *Propionibacteriaceae*), лактобактерії (сімейство *Lactobacillaceae*), і дріжджі (сімейство *Saccharomycetaceae*), використовуються і свідомо застосовуються як компоненти пшеничних заквасок в широкому діапазоні безпечної ферментованої їжі.

В табл. 2.1 порівнюються штами *Saccharomyces cerevisiae*, *Levilactobacillus brevis* та *Propionibacterim freudenreichii*, як компоненти пшеничної закваски через їх різні характеристики на хліб (смак, аромат, текстуру, термін зберігання та потенційну користь для здоров'я хліба).

Найбільше число колонієутворюючих одиниць в *P. freudenreichii* ssp. *shermanii* NBIMCC є [21]  $1.1 \cdot 10^{11}$ , менше кількість в *S. cerevisiae* FUA4018 [7] -  $1 \cdot 10^7$  і *L. brevis* TMW 1.2112 [8] -  $1 \cdot 10^9$ .

Тривалість культивування *S. cerevisiae* FUA4018, *L. brevis* TMW 1.2112 однакова (72 год), в *P. freudenreichii* ssp. *shermanii* NBIMCC менша (48 год).

Тому на наступному етапі вибору біологічного агента розрахуємо вартість поживних середовищ для культивування вибраних мікроорганізмів (табл. 2.2).

					НУХТ БТЕК 04.03.15 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Шкіль Т.О.			РОЗДІЛ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Буценко Л.М.					13	9
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Як видно з даних, наведених у табл. 2.2, середовище на знежиреному молоці для культивування штаму *P. freudenreichii* ssp. *shermanii* NBIMCC є найдешевшим (17 грн за 1 л) ніж на пептоні *S. cerevisiae* FUA4018, *L. brevis* TMW (34,62 й 15,74 грн)

На наступному етапі для остаточного вибору найефективнішого біологічного агента розрахуємо умовну вартість 1 г цільового продукту (табл. 2.3).

Для розрахунку кількості утвореної біомаси було проведено перерахунок КУО/мл на біомасу г/л, за допомогою концентрації азоту. Як відомо, 10% маси клітини це азот. Виходячи з цього на кожні 100% біомаси в нас 10-15% азоту, тобто можна скласти пропорцію 100 – 15 й біомаса - концентрація азоту. В результаті біомаса *S. cerevisiae* FUA4018 становить 25,5 г/л і *L. brevis* TMW 1.2112 22,4. Натомість концентрація біомаси *P. freudenreichii* ssp. *shermanii* NBIMCC прийнята як 13,76 г/л, спираючись на літературні дані [6, 21].

Дані, наведені у табл. 2.3, засвідчують, що умовна вартість біомаси, синтезованих штамом *P. freudenreichii* ssp. *shermanii* NBIMCC, є найнижчою (1,23 грн/г), а кількість утвореної біомаси за 1 год – найвищою (0,28 г/год). Тому це- найкращий продуцент.

Таблиця 2.1

## Особливості одержання біомаси для одержання закваски

Біологічний агент	Склад поживного середовища:		Тривалість культивування, год	КУО/мл	Біомаса г/л	Особливості процесу біосинтезу	Використана література
	компонент	концентрація, г/л					
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>		<i>6</i>	<i>7</i>
<i>Propionibacterium freudenreichii</i> ssp. <i>shermanii</i> NBIMCC	Знежирене пастеризоване молоко	Весь об'єм поживного середовища	48	$1.1 \cdot 10^{11}$	13,76	t = 28°C, w=150 об/хв, анаеробні умови	Denkova, R., Ilieva, S., Denkova, Z., Georgieva, L., Yordanova, M., Nikolova, D., & Evstatieva, Y. (2014). Production of wheat bread without preservatives using sourdough starters. <i>Biotechnology, biotechnological equipment</i> , 28(5), 889–898.
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> FUA4018	Пептон Дріжджовий екстракт Декстроза Хлорамфенікол	20 10 20 0,01	72	$1 \cdot 10^7$	6,6	Аеробно, 180 об/хв, 30°C, pH 7.0	Xu, D., Zhang, Y., Tang, K., Hu, Y., Xu, X., & Gänzle, M. G. (2019). Effect of mixed cultures of yeast and lactobacilli on the quality of wheat sourdough bread. <i>Frontiers in Microbiology</i> , 10, 2113.

<i>Levilactobacillus brevis</i> TMW 1.2112	Пептон	10	72	$1 \cdot 10^9$	6,9	25 °C, pH 5.5.	Bockwoldt, J. A., Fellermeier, J., Steffens, E., Vogel, R. F., & Ehrmann, M. A. (2021). $\beta$ -Glucan production by <i>Levilactobacillus brevis</i> and <i>Pediococcus claussenii</i> for in situ enriched rye and wheat sourdough breads. <i>Foods</i> , 10(3), 547.
	Дріжджовий	5					
	Екстракт	5					
	М'ясний	4					
	Екстракт	2,6					
	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ,	3					
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·3H <sub>2</sub> O	1					
	NH <sub>4</sub> Cl,	0,5					
	Твіну 80	10					
	Цистеїну-Hcl	5					
	Мальтози	5					
	Глюкози	0,2					
	Фруктози	0,038					
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O							
MnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O							

Таблиця 2.2

## Вартість поживних середовищ для культивування продуцентів

Продуцент	Компонент поживного середовища	Концентрація, г/л	Ціна компонента, грн/кг	Вартість компонента (грн) на 1 л Середовища	Джерело інформації (1...)*
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>
<i>Propionibacterium freudenreichii</i> ssp. <i>shermanii</i> NBIMCC	Знежирене пастеризоване молоко	Весь об'єм поживного середовища	17	17	1
	<b>Вартість 1 л середовища – 17 грн</b>				
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> FUA4018	Пептон	20	123,20	2,4	3
	Дріжджовий екстракт	10	1178,10	11,7	3
	Декстроза	20	56	1,12	1
	Хлорамфенікол	0,01	1940	19,4	1
	<b>Вартість 1 л середовища – 34,62 грн</b>				

Закінчення табл.2.2

<i>Levilactobacillus brevis</i> TMW 1.2112	Пептон	10	123,20	1,2	3
	Дріжджовий екстракт	5	1178,10	5,8	3
	М'ясний екстракт	4	1500	6	3
	К <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ,	2,6	97,96	0,25	1
	КН <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·3H <sub>2</sub> O	3	97,96	0,29	1
	NH <sub>4</sub> Cl	1	47,2	0,04	1
	Твіну 80	0,5	40	0,02	2
	Цистеїну-HCl	10	52,3	0,52	2
	Мальтози	5	312	1,56	2
	Глюкози	5	20	0,01	1
	Фруктози	0,2	22	0,044	1
	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,038	24,8	0,009	
	MnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	0,038	62	0,002	
	<b>Вартість 1 л середовища – 15,74 грн</b>				

**Примітка.** \* – Ціни наведено станом на березень 2024 р.

1 – <https://prom.ua/ua>, 2- <https://www.systopt.com.ua>, 3- <https://shop.hlr.ua/ua/>

Таблиця 2.3

## Умовна вартість 1 г біомаси, синтезованої обраними для порівняння продуцентами

Біологічний агент	Біомаса, л/г	Тривалість культивування, год	Утворення біомаси, г/год	Вартість 1 л середовища, грн/л	Умовна вартість 1 г біомаси, грн/г
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>
<i>Propionibacterium freudenreichii</i> ssp. <i>shermanii</i> NBIMCC	13,76	48	0,28	17	1,23
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> FUA4018	6,6	72	0,091	34,62	5,25
<i>Levilactobacillus brevis</i> TMW 1.2112	6,9	72	0,095	15,74	2,28

## 2.2. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки

### *Propionibacterium freundenreichii*

#### Морфолого-культуральні ознаки

*Propionibacterium freundenreichii* – вид грампозитивних, нерухомих, неспороутворюючих бактерій, форма яких зазвичай є паличкоподібною, але визначається, як плеоморфна, тобто така, яка є непостійною. Форма і колір колоній є також відмінними у кожного індивіду. Колір колоній може бути: червоним, рожевим, помаранчевим, жовтим, сірим і білим. При рості на рідких середовищах, колонії формуються у формі гранул різного розміру [9].

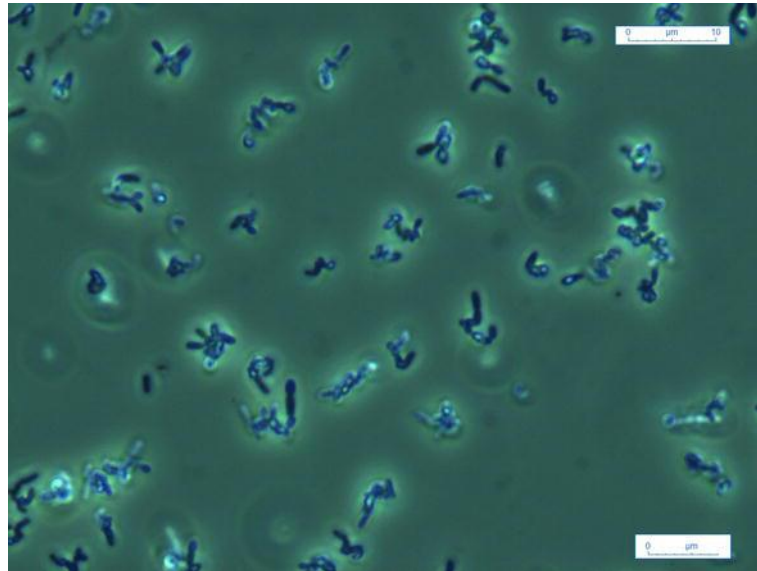


Рис. 2.1. Зображення бактеріальної культури *P. freundenreichii*.

#### Фізіолого-біохімічні ознаки

*P. freundenreichii* – аеротолерантна бактерія, температурний оптимум - 30°C. Бактерії цього виду відносяться до нетрофілів, оптимальне значення кислотності для росту – 7,1.

Позитивний результат: ферментація лактози, глюкози, рибози, манози, мальтози, галактози, рамнози, фруктози.

Є продуцентом коротколанцюгових жирних кислот, вітамінів групи В (В9, В12) і біфідогенних сполук, які стимулюють ріст такої групи бактерій, як *Bifidobacterium* [9, 10].

### 2.3. Таксономічний статус *Propionibacterium freudenreichii*

Таксономічний статус продуцента описано згідно сучасних наукових відомостей [11]:

Домен – *Bacteria*

Тип – *Actinomycetota*

Клас – *Actinomycetes*

Порядок – *Propionibacteriales*

Родина – *Propionibacteriaceae*

Рід – *Propionibacterium*

Вид – *freudenreichii*

## РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАКВАСКИ

### 3.1. Потреба хлібопекарської галузі України у заквасках

Український ринок хліба та хлібобулочних виробів посідає провідне місце у харчовій промисловості, забезпечуючи населення одним із основних продуктів харчування. Пшеничний хліб складає близько 65% від загального обсягу виробництва хлібобулочних виробів в Україні, що становить приблизно 600 тисяч тонн на рік. Проте значна частина виробленого хліба псується через розвиток пліснявих грибів, що призводить до втрати близько 10-12% готової продукції. Зниження втрат можливе завдяки використанню заквасок, які містять корисні мікроорганізми з протигрибковою активністю. Закваски на основі пропіоновокислих бактерій, зокрема *Propionibacterium freudenreichii*, дозволяють подовжити термін зберігання хліба до 5-7 діб без використання хімічних консервантів. При середній нормі внесення закваски 5-10% від маси борошна, річна потреба хлібопекарських підприємств України у біомасі *P. freudenreichii* становить близько 3000-6000 тонн [1, с. 156].

Закваска визначається як напівфабрикат, отриманий у процесі молочнокислого або спиртового бродіння суміші борошна та води. Пропіоновокисла закваска представляє собою особливий вид закваски, основним компонентом якої є біомаса *P. freudenreichii*, що забезпечує не лише протигрибкову дію, але й збагачує хліб вітамінами групи В. Додавання такої закваски при виробництві хліба сприяє формуванню характерного смаку та аромату готових виробів, покращує структуру м'якушки, підвищує харчову цінність продукції [3].

Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	НУХТ БТЕК 04.03.15 КР ПЗ			
Розроб.		Шкіль Т.О.			РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування закваски	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Буценко Л.М.					22	9
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Окрім того, пропіоновокислі бактерії синтезують бактеріоцини, які пригнічують розвиток патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів у хлібі. Перевагою використання *P. freudenreichii* є його здатність рости при температурах 30-37°C, що відповідає технологічним режимам хлібопечення. Штам *P. freudenreichii* також характеризується високою швидкістю росту та накопичення біомаси, що робить його перспективним для промислового виробництва [3].

Хліб є одним з найбільш споживаних продуктів харчування у більшості країн світу і одночасно стратегічним продуктом харчової галузі України. Повномастабне вторгнення росії в Україну значно поглибило енергетичну кризу, а зростання цін на енергоносії значно вплинули на ціни багатьох продуктів харчування, зокрема й хліба і хлібобулочних виробів. Дослідники зазначають, що на міні-пекарні припадає незначна частка ринку, що становить близько 10% продукції, їх діяльність фокусується на певному сегменті в межах певного міста чи селища. Однак малі пекарні можуть швидше змінювати асортимент продукції, мають незначні витрати на збут, оскільки виробництво та збут переважно знаходяться в одному місці, внаслідок цього присутній прискорений обіг фінансів, що є значною перевагою малих пекарень перед великими підприємствами [12].

Власники сучасних пекарень зазначають, що не тільки пекарні використовують генератори в умовах пошкоджень енергоструктури внаслідок війни, а й виробники складових хлібу (борошна, маргарину, дріжджів тощо), тому це значно збільшує витрати і відповідно вартість кінцевих хлібобулочних виробів. Вплив енергетичної кризи на виробництво хліба є суттєвим і дана проблема вимагає швидкого рішення [12].

Оскільки значна частина поліпшувачів є синтетичними добавками, то факт широкого їх використання в хлібопеченні насторожує значну частину споживачів. Багато хлібопекарських поліпшувачів (йодати, персульфати, бромати калію і кальцію, азодикарбонамід, дикрахмалгліцерін) заборонено

до використання, однак дозволені препарати також здатні чинити негативний вплив на організм людини [13].

Одним з таких рішень може бути проведення виготовлення хліба на основі заквасок *P. freudenreichii*.

Такий підхід дозволяє виробникам задовольнити вимоги споживачів щодо відсутності синтетичних добавок у складі хліба, а також в такий спосіб знизити витрати на їх закупівлю, покращивши економічні показники. При цьому застосування пропіоновокислих заквасок не потребує значних змін у технологічному процесі виробництва хліба та може бути впроваджене на існуючому обладнанні хлібозаводів [14, с. 287].

Основними з переваг використання заквасок в технології хлібобулочних виробів є: підвищення кислотності та прискорення дозрівання тіста; розпушення тіста (якщо відсутні комерційні хлібопекарські дріжджі); властивості консерванту; підкреслення смако-ароматичних властивостей готової продукції; тривале збереження свіжості виробів та подовження термінів зберігання; покращення перетравлювання хліба організмом людини; вища засвоюваність мінеральних речовин [15].

За оцінками експертів, впровадження технології виробництва хліба на заквасках дозволяє підвищити рентабельність виробництва на 15-20% за рахунок зменшення повернень продукції та розширення асортименту [14, с. 287].

Близько 20% підприємств хлібопекарської галузі сьогодні зруйновані або не повернулися до виробництва з початку війни [16].

Аналітики проаналізували загальну статистику по ринку, акумульовану з різних відкритих джерел, та дійшли висновку, що під час війни кількість пекарень в Україні зменшилась на 9%, у порівнянні даних за квітень 2024 року та грудень 2021 року [17].

Тому розширення виробництва біомаси *P. freudenreichii* сприятиме розвитку ринку натуральних хлібопекарських інгредієнтів та підвищенню якості хлібобулочних виробів, що дасть змогу крафтовим пекарням вийти

на вітчизняний ринок та зайняти місце пекарень, що пішли з ринку за 2021-2024 роки через пандемію та вторгнення росії в Україну.

На основі даних таблиці 1.1 можна зробити висновок, що найбільшу частку у виробництві хлібобулочних виробів займає пшеничний хліб (65%), для якого особливо актуальною є проблема пліснявіння. Втрати продукції через розвиток пліснявих грибів складають 60-72 тис. тонн на рік, що в грошовому еквіваленті становить значні збитки для галузі. Використання заквасок на основі *P. freudenreichii* дозволяє знизити ці втрати на 60-70%, що відповідає збереженню 36-48 тис. тонн продукції на рік.

Таблиця 3.1

### Аналіз ринку хлібобулочних виробів України та потреби у заквасках

Показник	Значення	Частка ринку, %
Загальний обсяг виробництва хліба, тис. тонн/рік	600	100
- пшеничний хліб	390	65
- житній та житньо-пшеничний хліб	150	25
- інші види хлібобулочних виробів	60	10
Втрати через пліснявіння, тис. тонн/рік	60-72	10-12
Потенційне зменшення втрат при використанні заквасок, тис. тонн/рік	36-48	6-8

### 3.2. Розрахунок потужності виробництва закваски на основі

#### *Propionibacterium freudenreichii*

На українському ринку виробництво бактеріальних заквасок для хлібопекарської промисловості здійснюють такі підприємства: ДП "Ензим" (м. Ладижин), ПрАТ "Компанія Ензим" (м. Львів), та ТОВ "БТУ-Центр" (м. Ладижин).

Кожен українець щодня купує хліб чи хлібобулочні вироби. Річний показник споживання хліба в Україні становить приблизно 1,2-1,3 млн тонн хліба. Хліб має близько 40% від усієї калорійності харчового раціону українців [18].

Експерти із Заходу стверджують, що у 2025 році кількість людей, яка наразі проживає на підконтрольній Україні території, становить близько 29 мільйонів [19].

У даній роботі планується організувати маленьке крафтове виробництво хліба на заквасці з використанням *P. freudenreichii*. Тому для забезпечення продукцією власного крафтового виробництва оберемо частку населення 0,0155%, які будуть постійними покупцями хліба:

$$\frac{29\,000\,000 \times 0,0155}{100} = 4\,500 \text{ людей}$$

Зазвичай рекомендується вживати близько 1-2 порцій хліба на день, де 1 порція - це приблизно 1-2 шматочки (близько 50-60 грамів) [20].

Отже, якщо норма для однієї людини споживати 50 г хліба на день, то для 4 500 людей сумарно ця кількість складе:

$$50 \times 4\,500 = 225\,000 \text{ г} = 225 \text{ кг}$$

Припустимо, що 4 500 людей протягом року харчуватимуться як хлібом нашого виробництва (200 днів), так і виготовленим іншими хлібозаводами (165 днів). Тоді для забезпечення хлібом 4500 людей протягом 200 днів при споживанні 50 г хліба на день потрібна така його кількість:

$$225 \times 200 = 45\,000 \text{ кг}$$

Таким чином, потреба в хлібі, що буде випікатись на власному крафтовому підприємстві, для 4500 людей протягом 200 днів на рік складатиме 45 000 кг хліба.

### **3.3. Розрахунок геометричного об'єму ферментера**

Стаття [21] засвідчує, що вирощені на молоці бактерії *P. freudenreichii* ssp. *shermanii* NBIMCC використовували як компонент закваски для виготовлення хліба. Штам *P. freudenreichii* ssp. *shermanii* NBIMCC 327 культивували в знежиреному молоці при 30 °С. Тобто, як поживне середовище використовували знежирене молоко та проводили

заквашування культурою даного біологічного агента протягом 48 годин. Отримана закваска являє собою фактично культуральну рідину.

Отже, розрахована потреба в хлібі складає 45 000 кг. Закваску вносили в тісто для приготування хліба. Величина упікання для різних видів хлібобулочних виробів коливається в межах 6,0-14% і залежить від конструктивних особливостей печі, маси, форми і рецептури виробів. Прийmemo величину упікання хліба 10%. Тоді для отримання 45 000 кг хліба потрібно тіста:

$$\begin{aligned}45\ 000\ \text{кг} &- 90\% \\ X &- 100\% \\ X &= \frac{45000 \times 100}{90} = 50\ 000\ \text{кг тіста}.\end{aligned}$$

Встановлено, що для запобігання бактеріальному псуванню необхідно додавати 10% закваски до тіста, що буде використовуватись для випікання крафтового хліба [21]. Тоді відповідно потрібно додати 5 000 л закваски, щоб отримати 50 000 кг тіста.

Врахуємо також можливі втрати закваски на етапах її отримання, що складуть близько 10%:

$$5000 \times 1,1 = 5500\ \text{л}$$

Відповідно до цього дізнаємось, скільки культуральної рідини слід одержати за цикл ферментації, щоб розрахувати кількість стадій приготування посівного матеріалу [22]. Приймаємо кількість трудоднів 200, тоді об'єм культуральної рідини за добу:

$$V_{\text{д}} = V_{\text{гп}} / T_{\text{тр}} = 5500 / 200 = 27,5\ \text{л}$$

Кількість продукту за цикл буде становити:

$$V_{\text{цк}} = (K_1 \times V_{\text{д}} \times T_{\text{цф}}) / 24 = (1,1 \times 27,5 \times 53) / 24 = 67\ \text{л /цикл},$$

де  $T_{\text{цф}}$  – цикл роботи ферментера, який включає тривалість виробничого біосинтезу (48 год) та час підготовки ферментера до роботи (5 год).  $K_1$  – коефіцієнт запасу, що враховує можливість нестерильних операцій ( $K_1 = 1,1 - 1,5$ ) [19].

Підготовка ферментера включає: мийка та огляд – 1,5 год, перевірка на герметичність – 0,5 год, підігрів та стерилізація апарату – 1,5 год, охолодження ферментера – 0,5 год, завантаження поживного середовища – 0,5 год, засів культурою – 0,5 год.

Визначивши об'єм КР за один цикл і врахувавши коефіцієнт заповнення  $K_z$ , визначимо геометричний об'єм ферментера:

$V_{\Gamma} = V_{\text{крц}}/K_{\text{зап}} = 67/0,7 = 95$  л. Приймаємо найближчий за об'ємом ферментер об'ємом 100 л.

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$K_z = 67/100 = 0,67$  – не перевищує заданого значення. Такий коефіцієнт заповнення підходить для анаеробних процесів, враховуючи, що наш продуцент є факультативним анаеробом.

Слід зазначити, що закваску *P. freudenreichii* ssp. *shermanii* NBIMCC не можна зберігати. Після заквашування (культивування) упродовж 48 годин необхідно одразу використати отриману заквасочну культуру для виробництва хлібу. Із врахуванням цього було обрано ферментер невеликого об'єму – 100 л, що підходить для крафтового виробництва хлібу на такій заквасці.

#### **3.4. Розрахунок кількості стадій отримання посівного матеріалу для ферментера 100**

За один виробничий цикл отримують 67 л культуральної рідини (згідно пункту 1.3). При одержанні культуральної рідини потрібно врахувати її втрати в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря ( $E_{\text{ф}}$ ), які становлять від 10 - 15%.

З урахуванням покриття 10% втрат об'єм поживного середовища та посівного матеріалу перед виробничим біосинтезом має становити:

$$V_{\text{роб.1}} = V_{\text{кр}} \times (1 + E_{\text{ф}}) = 67 \times 1,1 = 73,7 \text{ л,}$$

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

Отже, робочий об'єм ферментера дорівнює 73,7 л. За вибраного коефіцієнта заповнення 0,7 геометричний об'єм ферментера становить:  $V_{\text{ф}}$

=  $73,7/0,7 = 105$  л. Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний ферментер  $V_{ст1} = 100$  л.

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:  $K_{з1} = 73,7/100 = 0,73$ . Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у вибраних межах, це значить, що геометричний об'єм ферментера обрано правильно.

Кількість посівного матеріалу для ферментера становить 10 % від об'єму поживного середовища.

Для засіву  $V_{роб.1} = 73,7$  л середовища необхідно приготувати

$$V_{пм1} = V_{роб.1} \times X_{\phi} = 73,7 \times 0,1 = 7,3 \text{ л посівного матеріалу,}$$

де  $X_{\phi} = 0,1$  – доза посівного матеріалу для ферментера.

Тоді об'єм поживного середовища в ферментері буде становити:

$$V_{пс1} = V_{роб.1} - V_{пм1} = 73,7 - 7,3 = 66,4 \text{ л,}$$

Врахуємо, що при одержанні 7,3 л інокуляту в посівному апараті 10% культуральної рідини буде втрачено внаслідок краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря. З урахуванням цього об'єм поживного середовища та посівного матеріалу в посівному апараті становитиме:

$$V_{роб.2} = V_{пм1} \times (1 + E_{\phi}) = 7,3 \times 1,1 = 8 \text{ л}$$

Об'єм інокуляту 8 л за коефіцієнта заповнення 0,7 можна отримати в посівному апараті об'ємом:  $V_{па2} = 8/0,7 = 11$  л. Приймаємо посівний апарат такого розміру -  $V_{ст2} = 10$  л.

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:  $K_{з2} = 8/10 = 0,8$ . Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у вибраних межах, отже геометричний об'єм посівного апарату обрано правильно.

Кількість посівного матеріалу для посівного апарата становить 10 % від об'єму поживного середовища. Отже, для засіву  $V_{роб.2} = 8$  л слід передбачити:

$$V_{пм2} = V_{роб.2} \times X_{\phi} = 8 \times 0,1 = 0,8 \text{ л посівного матеріалу}$$

де  $X_{\phi} = 0,1$  – доза посівного матеріалу для посівного апарата.

Тоді об'єм поживного середовища в посівному апараті буде становити:

$$V_{пс2} = V_{роб.2} - V_{пм2} = 8 - 0,8 = 7,2 \text{ л}$$

Отримання інокуляту  $V_{\text{пм}2} = 0,8$  для засіву посівного апарату слід провести культивуванням *P. freudenreichii* ssp. *shermanii* NBIMСС у колбах на качалках.

Для цього можна використати качалочні колби обсягом  $V_{\text{колб}} = 750$  мл з коефіцієнтом заповнення  $K_{\text{зк}} = 0,4$ .

Тоді необхідно передбачити наявність та відповідну підготовку такої кількості качалочних колб:

$$N_{\text{колб}} = V_{\text{пм}4} / (V_{\text{колб}} * K_{\text{зк}}) = 800 / (750 * 0,4) = 3 \text{ колби}$$

Отримання інокуляту для вирощування посівного матеріалу в колбах на качалці буде проходити на агаризованому середовищі.

Отже, з метою отримання інокуляту для проведення культивування закваски на основі *P. freudenreichii* ssp. *shermanii* NBIMСС для виготовлення хліба встановлюють ферментер об'ємом 100 л з коефіцієнтом заповнення 0,7, а також інокулятор об'ємом 10 л та готують 3 качалочні колби.

Таблиця 3.2

Узагальнені розрахунки для одержання закваски на основі *P.*

*freudenreichii* ssp. *shermanii* NBIMСС

№ стадії	Тип апарата	Геометричний об'єм апарата $V_{\text{г}}, \text{л}$	Коефіцієнт заповнення, $K_{\text{зк}}$ , частка	Робочий об'єм апарата $V_{\text{роб}}, \text{л}$	Об'єм поживного середовища, $V_{\text{пс}}, \text{л}$	Об'єм посівного матеріалу, $V_{\text{пм}}, \text{л}$	Найближчий об'єм апарата, л
1	2	3	4	5	6	7	8
1.	Колби, шт	3 шт	0,4	0,8	0,72	0,08	3 шт
2.	Інокулятор	10	0,8	8	7,2	0,8	11
3.	Ферментер	100	0,73	73,7	66,4	7,3	105

## РОЗДІЛ 4. БІОСИНТЕЗ ЦІЛЬОВОЇ БІОМАСИ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ ЗАКВАСКИ

### 4.1. Катаболізм ростового субстрату у *Propionibacterium freundenreichii*

Для описування катаболізму субстрату у бактерій штаму *P. freudenreichii* subsp. *shermanii* ATCC 13673 використаємо інформацію, що описує катаболізм виду *P. freudenreichii* subsp. *shermanii* [23, 24].

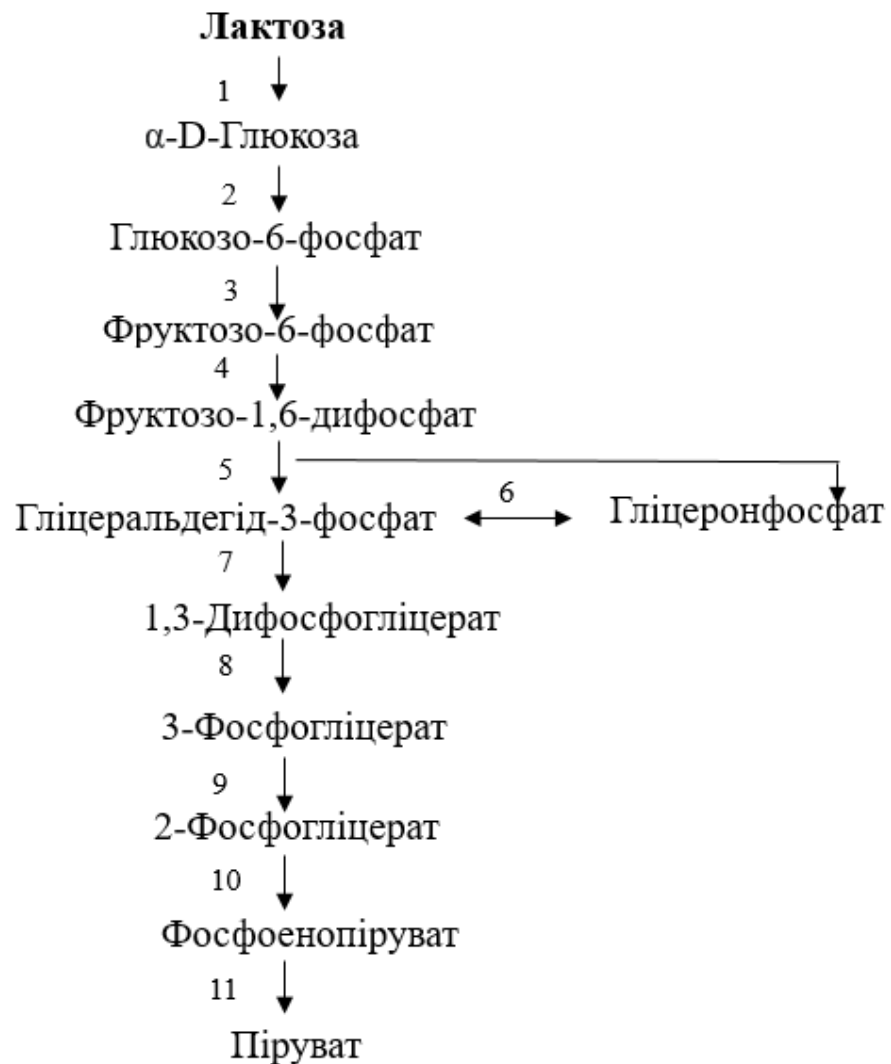


Рис. 4.1. Шлях катаболізму глюкози в *P. freudenreichii* subsp. *shermanii* [23, 24].

					НУХТ БТЕК 04.03.15 КР ПЗ					
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 4. Біосинтез цільової біомаси для одержання закваски					
Розроб.		Шкіль Т.О.						Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Буценко Л.М.							31	4
Реценз.								Кафедра БТМ		
Н. Контр.										
Затверд.		Стабніков В.П.								

### **Ферменти:**

- 1 – бета-галактозидаза (ЕС:3.2.1.23);
- 2 – фосфоглюкомутаза (ЕС:5.4.2.2);
- 3 – глюкозо-6-фосфат ізомераза (ЕС:5.3.1.9.);
- 4 – фосфофруктокіназа (ЕС:2.7.1.11);
- 5 – фруктозодифосфатальдолаза (ЕС:4.1.2.13);
- 6 – триозофосфатізомераза (ЕС:5.3.1.1);
- 7 – гліцеральдегідфосфатдегідрогеназа (ЕС: 1.2.1.12);
- 8 – фосфогліцераткіназа (ЕС: 2.7.2.3);
- 9 – фосфогліцератмутаза (ЕС: 5.4.2.12);
- 10 – енолаза (ЕС:4.2.1.11);
- 11 – піруваткіназа (ЕС:2.7.1.40).

### **4.2. Біотрансформація ростового субстрату у біомасу**

#### ***Propionibacterium freundenreichii***

Лактоза є джерелом вуглецю *Propionibacterium freundenreichii*, вона перетворюється на глюкозу, яка під час росту перетворюється на піруват у гліколізі. Потім піруват під дією дигідроксиліпоаміддегідрогенази (КФ 1.8.1.4) трансформується в ацетил-КоА, який далі вступає в цикл трикарбонових кислот (ЦТК) [25].

Глюкоза розщеплюється в циклі Кребса, вивільняючи енергію у формі АТФ. Ця енергія використовується для синтезу амінокислот, нуклеотидів, ліпідних компонентів та будівельних блоків пептидоглікану.

Амінокислоти утворюються з  $\alpha$ -кетокислот, які є продуктами циклу Кребса. Далі амінокислоти зв'язуються між собою пептидними зв'язками, утворюючи білкові молекули.

Нуклеотиди синтезуються з рибози або дезоксирибози та фосфатних груп. Ці нуклеотиди потім зв'язуються між собою, утворюючи ланцюги ДНК або РНК.

Пептидоглікан - це основний компонент клітинної стінки бактерій. Він синтезується з N-ацетилглюкозаміну, N-ацетилмурамової кислоти та пептидних ланцюгів.

Ліпіди утворюються з жирних кислот та гліцерину. Жирні кислоти синтезуються з ацетил-КоА, а гліцерин може утворюватися з глюкози.

Схему перетворення ростового субстрату лактози на глюкозу на кінцевий продукт біомасу наведено на рисунку 4.2.

1 - фосфоглюкомутаза (КФ 5.4.2.2), 2 - глюкозо-6-фосфатізомераза (КФ 5.3.1.9), 3 - 6-фосфофруктокіназа 1 (КФ 2.7.1.11), 4 - фруктозо-бісфосфатальдолаза II класу (КФ 4.1.2.13), 5 - гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназа I типу (КФ 1.2.1.12), 6 - фосфогліцераткіназа (КФ 2.7.2.3), 7 - фосфогліцератмутаза (КФ 5.4.2.11), 8 - фосфопіруватгідратази (КФ 4.2.1.11), 9 - піруваткіназа (КФ 2.7.1.40), 10 - дигідроліпоаміддегідрогеназа (КФ 1.8.1.4), 11 - цитратсинтаза (КФ 2.3.3.1), 12 - аконітатгідратаза (КФ 4.2.1.3), 13 - ізоцитратдегідрогеназа (КФ 1.1.1.42), 14 - дигідроліпоаміддегідрогенази (КФ 1.8.1.4), 15 - сукциніл-КоА синтетаза, альфа-субодиниця (КФ 6.2.1.5), 16 - субодиниця цитохрому b сукцинатдегідрогенази (КФ 1.3.5.1), 17 - фумаратгідратаза клас II (КФ 4.2.1.2), 18 - малатдегідрогеназа (КФ 1.1.1.37), 19 - фосфоенолпіруват-карбоксилаза (КФ 4.1.1.31), 20\* - піруваткарбоксилаза (КФ 6.4.1.1), 21 - глюкозо-6-фосфатізомераза (КФ 5.3.1.9), 22 - глюкозо-6-фосфат 1-дегідрогеназа (КФ 1.1.1.49), 23 - 6-фосфоглюконолактоназа (КФ 3.1.1.31), 24 - 6-фосфоглюконатдегідрогеназа (КФ 1.1.1.44/1.1.1.343), 25 - рибозо-фосфат-пірофосфокіназа (КФ 2.7.6.1), 26- рибулозофосфат-3-епімераза (КФ 5.1.3.1), 27 - транскетолаза (КФ 2.2.1.1), 28 - трансальдолаза (КФ 2.2.1.2), 29 - гуанілаткіназа (КФ 2.7.4.8), 30 - нуклеозиддифосфаткіназа (КФ 2.7.4.6), 31 - аденілаткіназа (КФ 2.7.4.3), 32 - нуклеозиддифосфаткіназа (КФ 2.7.4.6), 33 - оротидин-5'-фосфатдекарбоксилаза (КФ 4.1.1.23), 34 - уридилаткіназа (КФ 2.7.4.22), 35 - нуклеозиддифосфаткіназа (КФ 2.7.4.6), 36 - СТР-синтаза (КФ 6.3.4.2).

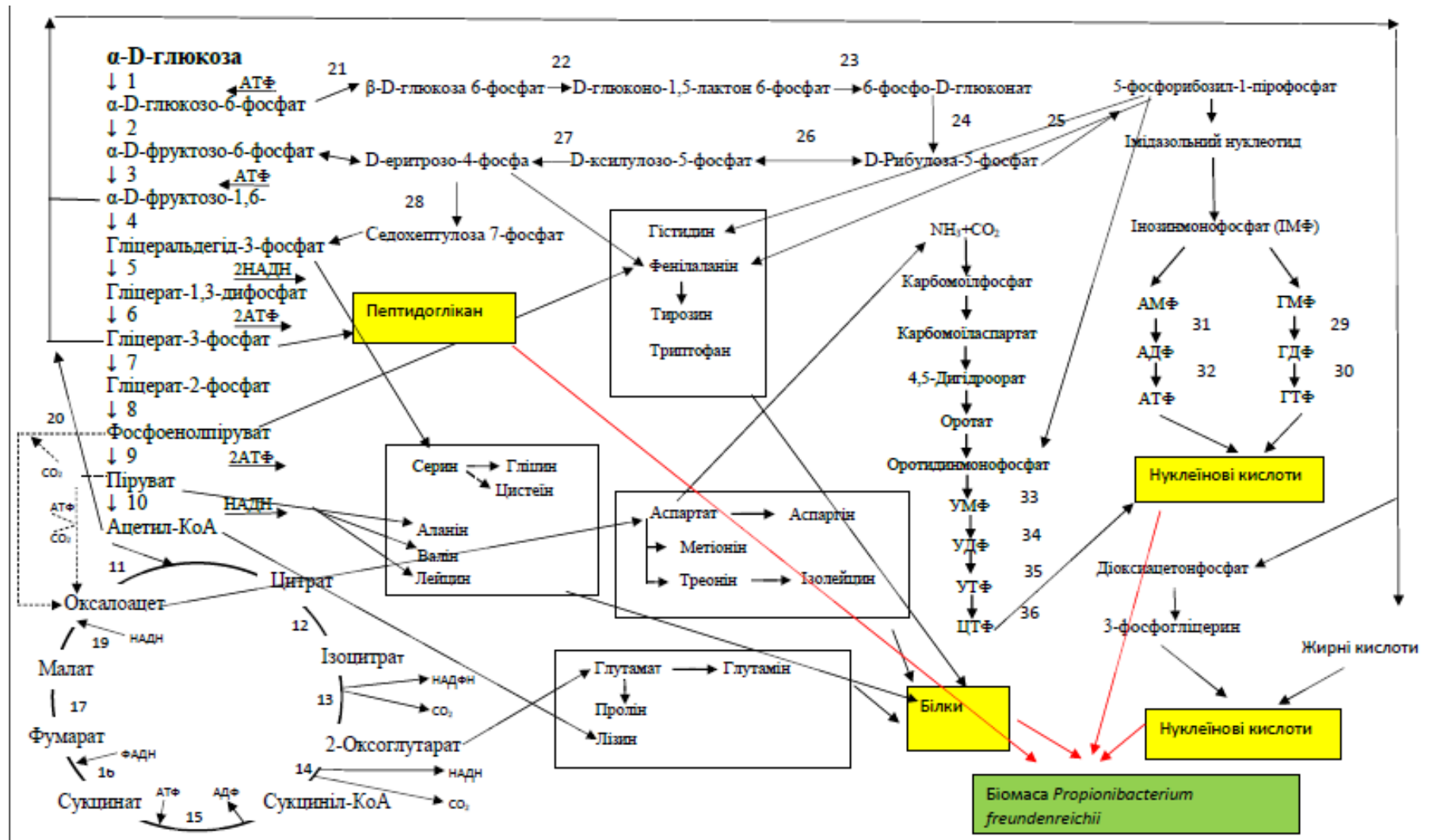


Рис. 4.2. Схема перетворення ростового субстрату на кінцевий продукт – біомасу *Propionibacterium freundenreichii*.

## РОЗДІЛ 5. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

### 5.1. Обґрунтування способу культивування *Propionibacterium freundenreichii* як компонента пшеничних заквасок і типу ферментера

Оптимальні умови для вирощування *P. freundenreichii* - це температура 30°C та рН 7, існує ризик забруднення сторонніми мікроорганізмами, які люблять рости при таких умовах. Тому для біосинтезу потрібні стерильні умови, яких неможливо досягти при вирощуванні твердо-фазовим способом.

Стерильні умови забезпечуються за допомогою стерилізація обладнання, поживного середовища та повітря. Кисень з вільним доступом для росту та метаболізму буде доступний, при використанні ферментера з барботером.

З вищезазначених причин *P. freundenreichii* для біосинтезу його продуктів (пропіонової кислоти, вітаміну В12, трегалози) вирощують глибинним способом.

Незважаючи на значні переваги безперервного вирощування перед періодичним, біосинтез продуктів *P. freundenreichii* зазвичай відбувається періодично. Це пов'язано з тим, що максимальна кількість цих сполук синтезується у стаціонарній фазі росту мікроорганізму.

Використання вищезазначених умов та способу культивування дозволяє максимально ефективно вирощувати *P. freundenreichii* [26, 27].

					НУХТ БТЕК 04.03.15 КР ПЗ					
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата						
Розроб.		Шкіль Т.О.			РОЗДІЛ 5. Обґрунтування вибору технологічної схеми					
Перевір.		Буценко Л.М.						Літ.	Арк.	Аркушів
Реценз.									35	22
Н. Контр.								Кафедра БТМ		
Затверд.		Стабніков В.П.								

Для культивування *P. freudenreichii* з об'ємом ферментера 100 л та коефіцієнтом заповнення 0,7 рекомендується використовувати ферментер з механічною аерацією та терморегулюванням.

Механічна аерація забезпечує надходження кисню до культури, що сприяє кращому росту та метаболізму. Оптимальну температуру росту бактерії 25-30°C. Терморегулювання ферментера дозволяє підтримувати цю температуру протягом усього процесу культивування, що забезпечує максимальну продуктивність та якість продукту

Прикладом такого апарату є ферментер виробництва компанії Промвіт [28].

Призначення: приготування рідких засобів біологічного захисту рослин та інших біологічних препаратів.

Конструкція реактора відповідає вимогам GMP EU.

Кришка (люк) оснащена:

- Барботер;
- Запобіжним клапаном;
- манометром;
- мікроспінером;
- оглядовим вікном з «двірником» та ліхтарем підсвічування;
- технологічними штуцерами Dn25 – 2 шт.;
- лійкою з ручним клапаном Dn32;
- штуцер Dn32 із дихальним фільтром;

Бічна поверхня корпусу оснащена:

- 4-ма знімними відбивними перегородками (відбійниками);
- пробовідбірником типу КЕОФІТ виробництва ТМ «ПРОМВІТ»;
- Датчиком рН;
- донним датчиком рівня, що на дисплеї пульта показує кількість рідини у літрах;

Днище оснащено:

- термогільзою із датчиком температури продукту;

- турбінною 3-х ярусною мішалкою з плавно регульованими оборотами;
- обороти мішалки, об/хв від 200 до 400;
- ущільнення валу мішалки – 2-ге торцеве з незалежною системою мастила та охолодження;
- Вентилем нижнього спуску грибкового типу з ручним управлінням;
- Теплообмінна сорочка оснащена:
  - верхнім штуцером із пропорційним клапаном подачі пари для підтримки заданої температури продукту;
  - нижнім штуцером для зливу конденсату [28];



Рис. 5.1 Ферментер об'ємом 100 л РФ-100 компанії Промвіт [28].

Матеріал виготовлення у контакті з продуктом - сталь AISI 316L

Матеріал виготовлення не контактує з продуктом - сталь AISI 304

Чистота обробки поверхонь реактора:

- у контакті продуктом  $Ra \leq 0,6$
- зовнішні поверхні  $Ra \leq 0,8$
- зовнішніх зварних швів  $Ra \leq 1,6$

Габарити реактора, мм: довжина 1300, ширина 700, висота 1600 [28].

## **5.2. Обґрунтування стадій підготовки виробничого процесу для одержання біомаси *Propionibacterium freudenreichii***

*P. freudenreichii* є факультативним анаеробом, тому активна аерація не є необхідною проте стерильне аераційне повітря потрібне в анаеробному культивуванні для досягнення певних параметрів процесу, а також для здійснення перекачування посівного матеріалу через трубу перетискання.

Підготовку стерильного стисненого аераційного повітря для біореакторів здійснюють наступним чином [29]:

- атмосферне повітря забирають турбокомпресором через забірну шахту, на висоті 8-10 м від найвищої точки будівлі, оскільки із збільшенням висоти над поверхнею концентрація мікроорганізмів у повітрі зменшується (висота ферментера - 3,2 м, висота перекриття 6 м, разом із косим дахом будівлі - 10 м);
- для звільнення повітря від грубого аерозолі (пил, захист компресора від забруднення) і зниження кількості контамінантів повітря очищають за допомогою фільтрів попереднього очищення;
- для досягнення підвищеного тиску з метою подолання опору фільтрувальних матеріалів на наступних стадіях фільтрування, а також подолання гідравлічного опору під час диспергування повітря у об'ємі культуральної рідини, повітря піддають стисненню у турбокомпресорі до 0,35-0,5 МПа (стиснення повітря в компресорі приводить до підвищення його температури до 120-250°C і збільшенню вологовмісту на одиницю об'єму);

- для охолодження нагрітого під час стиснення повітря та видалення вологи у краплевловлювачі повітря охолоджують за допомогою водяного теплообмінного апарату;
- для остаточного видалення конденсованої вологи та вирівнювання тиску повітря подають у ресивер;
- для очищення повітря, що подається до усіх ферментерів цеху і видалення до 98% мікроорганізмів очищення проводять на головних фільтрах, які заповнюються набивним волокном і встановлюються в цеху ферментації на головному повітряному колекторі стиснутого аераційного повітря;
- очищення повітря на індивідуальних фільтрах, повітря надходить через колектори від головних фільтрів (встановлені безпосередньо на кожному ферментері, затримують 99,999% мікроорганізмів).

Технологічно й економічно виправданим у промисловості є спосіб очищення повітря за допомогою волокнистих і пористих матеріалів, тому що вдається одержати повітря зі ступенем очищення від мікроорганізмів 99,999%.

У промисловому виробництві *P.freudenreichii* важливим фактором є забезпечення оптимального масообміну між газовою та рідкою фазами. Для цього використовується барботажна система аерації з розподільником повітря у вигляді перфорованого кільця. Діаметр отворів у барботері становить 2-3 мм, що забезпечує формування бульбашок оптимального розміру для ефективного масообміну. Швидкість подачі повітря підтримується на рівні 1 об'єм повітря на 1 об'єм середовища за хвилину (VVM) [26].

Система перемішування складається з турбінної мішалки відкритого типу з шістьма лопатями. Частота обертання мішалки становить 150-200 об/хв, що забезпечує рівномірний розподіл поживних речовин та кисню по всьому об'єму ферментера без надмірного піноутворення. Для запобігання

утворенню воронки та покращення перемішування ферментер оснащений відбивними перегородками [30].

Температурний режим підтримується за допомогою сорочки охолодження/нагрівання. Циркуляція теплоносія в сорочці забезпечує підтримання температури культивування в діапазоні 30-37°C з точністю  $\pm 0,5^\circ\text{C}$ . В якості теплоносія використовується очищена вода, яка подається через автоматичні регулюючі клапани в залежності від показань датчиків температури.

Для контролю рівня культуральної рідини ферментер оснащений емнісними датчиками рівня, які запобігають переповненню апарату та забезпечують захист від "сухого ходу" при спорожненні. Додатково встановлені оглядові вікна для візуального контролю процесу.

Конструкція ферментера передбачає можливість відбору проб культуральної рідини через спеціальні пробовідбірники без порушення стерильності процесу. Пробовідбірники обладнані системою пропарювання для забезпечення стерильності під час відбору проб.

Важливим аспектом є захист процесу ферментації від контамінації. Для цього всі з'єднання трубопроводів виконані з використанням асептичних фітингів типу "tri-clamp", які забезпечують надійну герметизацію та можливість швидкого монтажу/демонтажу для очистки та стерилізації. Перед кожним виробничим циклом проводиться стерилізація всього обладнання насиченою парою при температурі 121°C протягом 45 хвилин.

Для підтримки постійного тиску в системі встановлено регулятор тиску з запобіжним клапаном. Робочий тиск у ферментері підтримується на рівні 0,05-0,1 МПа, що забезпечує оптимальні умови масообміну та запобігає контамінації через ущільнення. При перевищенні максимально допустимого тиску спрацьовує запобіжний клапан.

Очистка відпрацьованого повітря здійснюється через систему фільтрів та конденсатовідвідників. Повітря, що виходить з ферментера,

містить значну кількість вологи та може містити клітини мікроорганізмів. Тому воно проходить через систему охолодження для конденсації вологи, а потім через фільтри тонкого очищення для видалення мікроорганізмів перед викидом в атмосферу.

Процес миття обладнання після завершення ферментації включає послідовну обробку розчинами миючих та дезінфікуючих засобів. Спочатку проводиться ополіскування водою для видалення основної маси забруднень, потім обробка лужним розчином для видалення органічних забруднень, після чого - обробка кислотним розчином для видалення мінеральних відкладень. Завершальним етапом є ополіскування очищеною водою та стерилізація обладнання.

Для забезпечення безпечної роботи персоналу передбачені системи блокування, які не дозволяють відкривати люки та патрубки ферментера при наявності надлишкового тиску. Також встановлені датчики-газоаналізатори для контролю концентрації кисню в робочій зоні.

### **5.3. Обґрунтування стадій санітарної підготовки виробництва та вибір мийних та дезінфікуючих засобів**

#### **5.3.1. Підготовка персоналу**

На відміну від галузевих нормативів, універсальний за сферою призначення стандарт ДСТУ ISO 9001:2009 (ISO 9001:2008) у п. 6.2.1 містить вимоги стосовно персоналу у такому формулюванні: «Персонал, залучений до робіт, які впливають на відповідність продукції вимогам де неї, повинен бути компетентним, тобто мати належну освіту, професійну підготовленість, навички та досвід». Також додається, що персонал, залучений до будь-яких робіт в межах системи управління якістю (СУЯ), може впливати на відповідність продукції вимогам до неї безпосередньо чи опосередковано. П. 6.2.2 ДСТУ ISO 9001:2009 вимагає, щоб організація [31]:

а) визначала необхідний рівень компетентності для персоналу, залученого до робіт, які впливають на відповідність продукції вимогам до неї;

б) якщо це застосовно, забезпечувала проведення навчання або вживала інших заходів для досягнення потрібної компетентності;

в) оцінювала результативність вжитих заходів;

г) забезпечувала обізнаність персоналу щодо доцільності та важливості своєї діяльності та щодо свого внеску в досягнення цілей у сфері якості;

д) вела відповідні записи стосовно освіти, професійної підготовленості навичок і досвіду.

Окрім основного навчання, кожен прийнятий на роботу працівник повинен пройти навчання відповідно до покладених на нього обов'язків. Програми навчання мають охоплювати, зокрема, теорію і застосування концепції забезпечення якості і GMP, а також, за наявності, специфічні вимоги до виробництва досліджуваних ЛЗ [32].

За результатами порівняння і узгодження відповідних вимог стандарту ДСТУ ISO 9001:2009 та Ліцензійних вимог, до яких імплементовані вимоги GMP ЄС, нами визначені основні вимоги щодо підготовки персоналу [32]:

- ПВЛЗ має забезпечувати належну кваліфікацію і компетентність (за визначенням ДСТУ ISO 9000:2007 – доведена здатність застосовувати знання та вміння персоналу, робота якого прямо або опосередковано впливає на відповідність вимогам до продукції);
- ПВЛЗ має забезпечувати первинне і періодичне навчання персоналу;
- ПВЛЗ повинне мати затверджені навчальні програми, застосовні для підготовки персоналу, охопленого ФСЯ. Ці програми мають охоплювати питання теорії і прикладних аспектів застосування

концепції забезпечення якості та GMP, а також специфічні фахові питання;

- ПВЛЗ має періодично оцінювати практичну ефективність навчання.

Від правильності і повноти виконання цих вимог напряму залежить успіх реалізації проекту впровадження СУЯ та рівень «дієздатності» системи. Для організації результативних заходів з навчання персоналу важливим є визначення з питаннями: кого, з якою метою, як і коли навчати. Об'єктом підготовки в рамках проекту впровадження СУЯ є персонал ПВЛЗ, робота якого прямо або опосередковано впливає на відповідність продукції вимогам. Для визначення кола таких працівників слід розглянути на які процеси підприємства поширюється розроблювана СУЯ. Як правило, всі учасники цих процесів і є об'єктом навчання [32].

### **5.3.2. Підготовка обладнання та інвентарю**

Підготовка обладнання як частина гігієнічної підготовки виробництва має на меті досягнення необхідної чистоти та стерильності.

#### **Очищення обладнання.**

Очищення обладнання відбувається наступним чином. Спочатку обладнання промивають водою протягом двох хвилин, після чого воду зливають у нейтралізаційний бак, а рідину зливають у систему зливу рідини. Потім обладнання промивають розчином каустичної соди з концентрацією 1-2% протягом 10 хвилин при температурі 40°C, після чого розчин повертають у бак для нейтралізації. Промивання питною водою слід проводити під час перекачування води в нейтралізаційний бак [33].

Якщо на поверхні обладнання є забруднення, які важко видалити, слід промити 1% розчином соляної кислоти при температурі 20°C і повернути розчин в бак нейтралізації.

Сучасні підприємства мають механізовані системи очищення обладнання, наприклад, гідромонітори. Для механічного очищення обладнання, резервуарів і ємностей використовують мийки ММ-4А і гідромонітори Г-13А. Вони опускаються в обладнання через люк в опорній

системі і працюють під тиском 0,6. Внутрішні поверхні очищаються під дією струменя гарячої рідини з тиском 0,1 МПа. ММ-4А складається з нерухомого корпусу, корпусу, що обертається, приводного механізму, редуктора і соплового пристрою зі струменевою кермою. Корпус, що обертається, має різьбовий стакан для приєднання шланга. Миюча рідина з максимальною температурою 80 °С приводить в рух робоче колесо гідротурбіни, яке через вертикальний вал в черв'ячному редукторі обертає сопловий пристрій, що складається з двох сопел з вихідним діаметром 11 мм зі швидкістю 0,03-0,04 с<sup>-1</sup>. Перед виходом з сопел струминна рідина проходить через струминний заспокоювач, який збільшує діапазон струменя до 0,6...1,0 Мпа і витрати води до 30 м<sup>3</sup>/год протягом 20-25 хвилин [33].

### **5.3.3. Підготовка виробничих приміщень**

Забезпечення асептичних умов на біотехнологічних підприємствах невід'ємно пов'язане з проведенням санітарно-гігієнічних заходів. Основна мета санітарної підготовки виробництва полягає у мінімізації рівня контамінації всіх елементів виробничого процесу — персоналу, поверхонь обладнання, що контактує з культуральною рідиною, та виробничих приміщень, де чистота й дотримання асептики безпосередньо впливають на якість кінцевої продукції. Санітарно-гігієнічні заходи також мають важливе значення для створення безпечних умов праці та збереження здоров'я працівників. Реалізація санітарної підготовки включає проведення щоденного, позмінного та генерального прибирання виробничих приміщень, а також централізовану підготовку виробничого обладнання. [33].

Санітарна підготовка на біотехнологічних підприємствах охоплює кілька ключових напрямів [33]:

– Підготовка персоналу як потенційного джерела контамінації включає комплекс заходів, серед яких особиста гігієна, дотримання правил поведінки на виробництві, забезпечення працівників технологічним одягом.

Також проводиться відповідне навчання персоналу та контроль знань із санітарного режиму.

– Підготовка виробничих приміщень передбачає використання мийних, дезінфекційних та мийно-дезінфекційних засобів з метою зниження загального рівня забруднення та мікробної контамінації.

– Підготовка обладнання включає багатоступеневу обробку: миття, дезінфекцію зовнішніх поверхонь, ополіскування внутрішніх елементів та їх подальшу стерилізацію.

– Підготовка комунікаційних систем полягає в їх промиванні та стерилізації відповідно до вимог асептичного виробництва.

– Обов'язковим етапом підготовки обладнання є перевірка його герметичності та оцінка ефективності проведеної стерилізації.

**Дезінфекція та очищення** в промисловості — це важливі етапи будь-якого виробничого процесу. Важливо розуміти, що очищення та дезінфекція — це два різні процеси. **Дезінфекція** — це комплекс заходів зі знезараження об'єктів зовнішнього середовища, спрямований на повне, часткове або вибіркове знищення потенційно патогенних для людини мікроорганізмів. **Очищення** — це процес повного видалення пилу та залишків із поверхонь, після чого вони стають візуально чистими [34].

#### **Процес та порядок виконання миття й дезінфекції:**

**Миючі засоби (детергенти)** – це група засобів побутової хімії, призначених для очищення різних поверхонь і матеріалів від всякого роду забруднень або поверхнево-активна речовина зі очисними властивостями [35].

Миючі засоби розділяються за призначенням, консистенцією, видами миючої речовини, вмісту миючої речовини і іншими ознаками.

Документація повинна містити- результати випробувань біологічного розкладу поверхнево-активних речовин, що входять до складу мийного засобу; результати випробувань мийного засобу щодо вмісту в ньому фосфатів та інших сполук фосфору; технічний опис інгредієнтів [36].

*Основними перевагами дезінфекційних засобів є [37]:*

- хороша розчинність у воді;
- швидка дія;
- відносно низька вартість;
- багатоцільове призначення;
- широкий спектр антимікробної дії;
- екологічна безпека;
- відсутність різких запахів;
- низький рівень токсичності;
- належний рівень миючих властивостей;

До основних недоліків належать:

- обмежений спектр протівірусної активності;
- відсутність спороцидної дії при температурі навколишнього середовища в межах норми;
- інтенсивне піноутворення, що унеможлиблює застосування засобів у вигляді аерозолів;
- ймовірність формування резистентності у мікроорганізмів за умов тривалого використання;
- висока чутливість до дії зовнішніх чинників, зокрема неорганічних та органічних речовин, температури, світла, значень рН тощо.

За хімічною будовою антисептичні та дезінфекуючі лікарські засоби (АДЛЗ) поділяють на [38]:

- Неорганічні сполуки (галогени і галогеновмісні речовини, окисники, кислоти, луги, сполуки важких металів);
- органічні сполуки аліфатичного ряду (альдегіди, спирти, детергенти (поверхнево-активні речовини, ПАР));
- сполуки ароматичного ряду: похідні фенолу (дъоготь березовий, що містить фенол, толуол, ксилол, смоли тощо);
- органічні сполуки гетероциклічного ряду (сполуки нітрофурану, оксихіноліну, барвники).

## **Механізм дії.**

Антисептики перешкоджають протіканню нормальних біохімічних процесів внаслідок інактивації або гальмування активності деяких ферментних систем, припинення окисно-відновних процесів, денатурації або дегідратації білків протоплазми мікробної клітини. При цьому створюються несприятливі умови для розвитку і/або розмноження мікроорганізмів (бактеріостатичний тип дії протимікробних засобів). Дезінфікуючі засоби призводять до незворотних змін у протоплазмі клітин, що веде до швидкої загибелі мікробів (бактерицидний тип дії протимікробних засобів).

У медичній практиці доцільність їх застосування оцінюється за ступенем антимікробної активності, антибактеріальній дії і токсичності. Відбирають препарати, які мають найменшу токсичність і максимальну ефективність, хорошу розчинність і поверхневу активність, не завдають подразнюючої дії і не уповільнюють процес загоєння ран [38].

Активність засобів залежить від концентрації препарату, тривалості дії, температури середовища, ступеня чутливості збудника, присутності білка та інших органічних речовин. При підвищенні температури середовища активність АДЛЗ підвищується, при високому рівні мікробного забруднення вогнища інфекції – знижується.

Для антибактеріальних сполук широко використовується термін «біоциди», до яких слід віднести дезінфектанти і антисептики.

Процес взаємодії мікроорганізмів із антисептичними або дезінфекційними засобами відбувається поетапно та включає такі основні стадії [38]:

- адсорбція активної речовини на поверхні мікробної клітини;
- пошкодження клітинної стінки та мембрани;
- проникнення антимікробного засобу в цитоплазму;

– порушення внутрішньоклітинних біохімічних процесів, зокрема блокування надходження поживних речовин, дестабілізація структур клітини та інгібування механізмів виведення метаболітів.

Механізми дії антисептичних і дезінфекційних засобів значною мірою залежать від морфологічних особливостей мікроорганізмів. У більшості випадків ці речовини виявляють переважно внутрішньоклітинну активність, яка відіграє ключову роль у їхній антимікробній ефективності.

Основні механізми дії дезінфікуючих засобів включають:

- зшивання структурних білків, а також ДНК і РНК мікроорганізмів;
- порушення цілісності цитоплазматичної мембрани шляхом впливу на фосфоліпідно-білкові комплекси (при високих концентраціях – повне руйнування мембрани, при низьких – її часткове пошкодження);
- зв'язування та окиснення ферментативних систем;
- утворення вільних радикалів, які спричиняють окисне ушкодження клітинних компонентів.

Відомості про хімічний склад дезінфекційних засобів є ключовими для розуміння механізмів їх інактивації мікроорганізмів. Зокрема, такі сполуки, як глутаровий альдегід, гіпохлорит, етиленоксид і пероксид водню, активно взаємодіють з аміно- та сульфгідрильними групами біомолекул, виявляючи виражену віруліцидну та бактерицидну дію.

Веgetативні форми мікроорганізмів є чутливими до дії антисептиків і дезінфектантів, що зазвичай призводить до реалізації бактериостатичного ефекту. Досягнення бактерицидного ефекту, як правило, вимагає застосування високих концентрацій активних речовин, зокрема окисників. Такі засоби, як хлоргексидин, фенольні сполуки та спирти, виявляють виражену бактерицидну активність лише за умови підвищеної температури [38].

## **Обґрунтування вибору дезінфікуючих засобів для одержання закваски**

Виробництво включає наступні цехи: цех виробничого біосинтезу та вирощування інокуляту, качалочна кімната та лабораторне приміщення, де знаходяться автоклави, бокс, термостати, холодильники, апаратура для проведення різних видів контролю (ваги, рН-метр тощо). Відстань між стінами та апаратами становить 1,0 - 1,5 метра. Ширина проходів між емнісними апаратами складає 1 метр.

Габаритні розміри основного обладнання наведено у *табл.5.1*.

*Таблиця 5.1*

### **Габаритні розміри основного обладнання**

<b>Обладнання</b>	<b>Геометричний об'єм, л</b>
Ферментер	100
Інокулятор	10
Збірник-змішувач для зберігання молока	100
Пастеризаційна установка	10
Всього	220

За даними табл. 5.1, загальний об'єм реакторів-змішувачів та апаратів для вирощування посівного матеріалу і виробничого біосинтезу становить 220 л (0,220 м<sup>3</sup>).

З метою забезпечення чистоти виробничих приміщень, миття підлоги проводиться щодня, тобто 200 разів. Один раз на місяць здійснюється генеральне прибирання (обробка стін, підлоги, вікон тощо), тобто 6 разів. Для розрахунку кількості мийних засобів необхідно розрахувати приблизну площу оброблення мийними та дезінфікуючими засобами, враховуючи площу підлоги виробничого приміщення та площу стін на висоту 2 м.

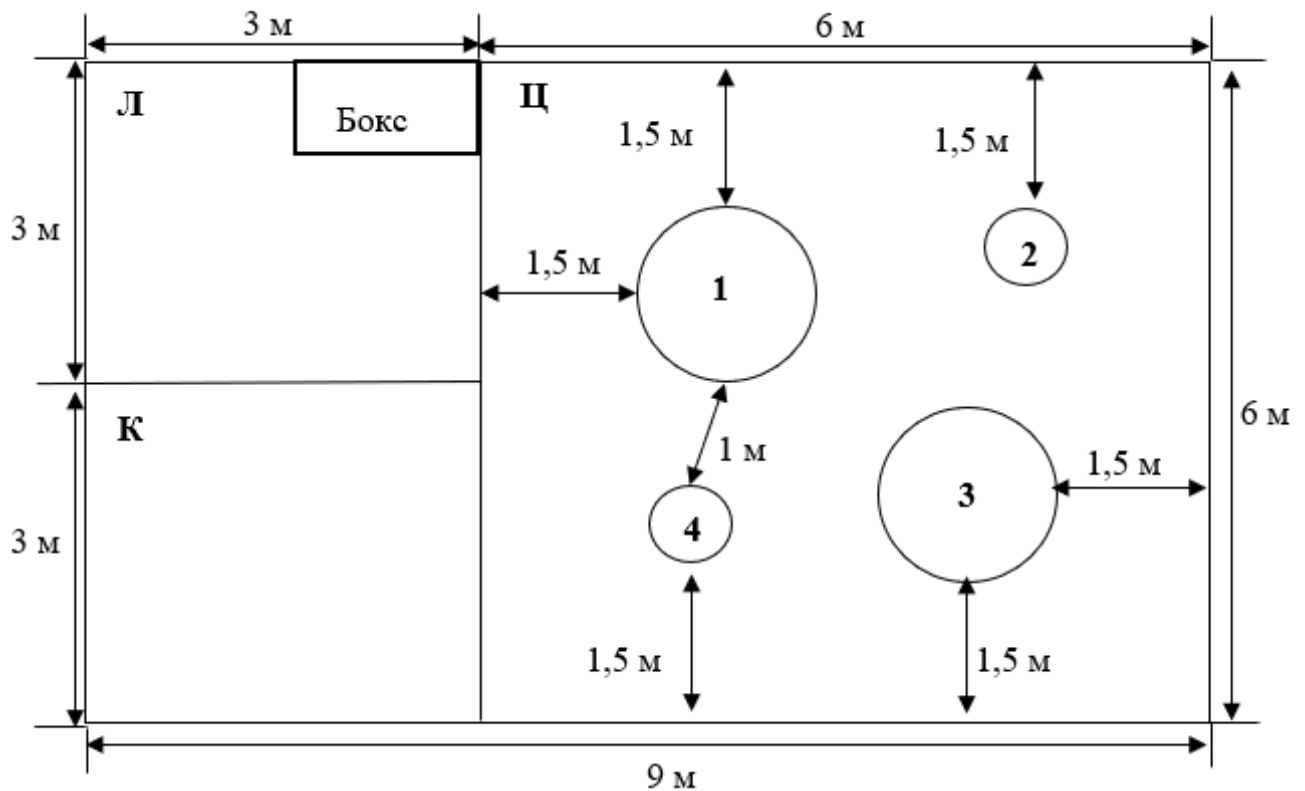


Рис. 5.1. План приміщень для виробництва закваски для хліба.

Ц - цех виробничого біосинтезу та вирощування посівного матеріалу:  
 1 – ферментер 100 л; 2 – інокулятор 10 л; 3 – збірник-змішувач для зберігання молока 100 л; 4 – пастеризаційна установка 10 л; Л – лабораторія; К – приміщення з качалками.

Площа підлоги цеху виробничого біосинтезу становить  $36 \text{ м}^2$  ( $6 \times 6 \text{ м}$ ), площа стін –  $[(2 \times 6) + (2 \times 6)] \times 2 = 48 \text{ м}^2$ , загальна площа –  $36 + 48 = 84 \text{ м}^2$ .

Загальну площу поверхні обробки мийними засобами наведено у *табл.5.2*.

*Таблиця 5.2*

**Розрахунок загальної площі стін та підлоги виробничих приміщень**

Приміщення	Площа підлоги, $\text{м}^2$	Площа стін, $\text{м}^2$	Загальна площа, $\text{м}^2$
Цех виробничого біосинтезу та вирощування інокуляту	36	48	84
Лабораторія	9	24	33

Приміщення з качалками	9	24	33
<b>Загальна площа</b>	<b>54</b>	<b>96</b>	<b>150</b>

Кількість виробничих циклів для виробничого біосинтезу становить 82 цикли. Оскільки миття обладнання відбувається перед кожним циклом, кількість процесів миття за весь період виробництва складає 83 (додаткове миття після останнього циклу). Тоді загальний об'єм миття становитиме:

$$0,220 \times 83 \approx 18 \text{ м}^3$$

Узагальнені дані щодо розрахунку площі миття та/або дезінфекції за весь період виробництва наведено в *табл.5.3*.

Таблиця 5.3

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

<b>Об'єкт миття та/або дезінфекції</b>	<b>Площа (об'єм) Оброблюваного об'єкту, м<sup>2</sup></b>	<b>Кількість процесів миття та/або дезінфекції за весь період виробництва</b>	<b>Загальна площа (об'єм) миття та/або дезінфекції об'єкту за весь період виробництва, м<sup>2</sup></b>
Обладнання	0,220	83	18 м <sup>3</sup>
Підлога	54	100	5400
Стіни, двері, вікна	150	3	450

Згідно з *таблицею 5.4*, найдорожчим миючим засобом для миття обладнання є Біомой, а для очищення виробничих приміщень є Хлорантоїн. Першим засобом, для миття поверхонь, використовуємо Дезекон (з подальшим чергуванням на Хлорантоїн); засіб для миття обладнання першим використовуємо каустичну соду (з подальшим чергуванням з Біомой).

Відомості про державну реєстрацію дезінфікуючих засобів Дезекон та Хлорантоїн також наведено у таблиці. Щодо каустичної соди та Біомою, ці засоби використовуються суто як миючі, вони не мають дезінфікуючих властивостей. Ці засоби фігурують у кількох тендерах державних закупівель, зокрема в медичних установах. Ці закупівлі здійснюються за

кодом ДК 021:2015 «39830000-9 — Продукція для чищення», що вказує на миючий засіб, а не на дезінфекційний. Відповідно до цього, внесення даних миючих засобів до реєстру дезінфектантів не передбачено.

Таблиця 5.4

**Узагальнена характеристика витрат мийних та дезінфікувальних засобів для біотехнологічного виробництва**

Назва миючого /дезінфікуючого засобу*	Державна реєстрація	Об'єкт миття/ дезінфекції	Концентрація робочого розчину, %	Загальна площа (об'єм) миття/дезінфекції за весь період виробництва, м <sup>2</sup> (л)	Кількість робочого розчину за весь період виробництва, л	Вартість 1 л/кг мийного або дезінфікувального засобу, грн	Вартість 1 л робочого розчину, грн	Загальна вартість миття та/або дезінфекції за весь період виробництва, грн
Каустична сода [39]	Закупівлі здійснюються за кодом ДК 021:2015 «39830000-9 - Продукція для чищення», що вказує на миючий засіб	Обладнання, інвентар, комунікації, тара	1,0	18	3600	64	0,64	2304
Біомой [40]		Обладнання, інвентар, комунікації, тара	0,3	18	3600	342	1,026	3694
Дезекон [41] (композиція з 4-ьох амонієвих солей)	17.04.2020 (17.04.2025)	Підлога, стіни, вікна, двері	0,2	5 850	585	390	0,78	456,3
Хлорантоїн [42] (дихлорантин)	30.03.2020 (30.03.2025)	Підлога, стіни, вікна, двері	0,2	5 850	585	757	1,514	885,69

\*Згідно аналізу ринку було обрано засоби для дезінфекції, які наведено у таблиці 2.4.

\*\*Ціни наведено станом на лютий 2025 року.

\*\*\*Для запобігання розвитку та поширенню стійких мікроорганізмів рекомендується використовувати обрані миючі засоби почергово кожні три місяці.

#### **5.4. Особливості приготування поживного середовища для вирощування *P. freudenreichii* з метою одержання закваски**

Для вирощування *P. freudenreichii* з метою одержання закваски планується використати поживне середовище наступного складу (г/л):

- молоко знежирене пастеризоване (весь об'єм поживного середовища).

Попереднім етапом підготовки молока знежиреного – це буде її пастеризація у пастеризаційній установці. Також при підрахунку загального об'єму молока враховуємо утворений конденсат, під час його пастеризації.

##### **5.4.1 Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища для одержання інокуляту у колбах на качалках**

Проаналізувавши склад поживного середовища для вирощування посівного матеріалу, робимо висновок про те, що ми матимемо весь об'єм ПС, яке складається з попередньо підготовленого молока:

**Композиція А:** молоко знежирене пастеризоване.

Розрахунок для приготування середовища для вирощування посівного матеріалу у флаконі наведений у *табл. 5.5*.

*Таблиця 5.5*

##### **Композиції стерилізації компонентів для вирощування посівного матеріалу у колбах на качалках**

<b>Компонент поживного середовища</b>	<b>Вміст, г/л</b>	<b>Кількість для приготування 0,8 л середовища, л</b>	<b>Композиції</b>	<b>Об'єм композиції, V, л</b>
Пастеризоване знежирене молоко	-	0,8	А	0,8
<b>Разом</b>		<b>0,8</b>		<b>0,8</b>

##### **5.4.2. Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для одержання посівного матеріалу в інокуляторі 10 л**

**Композиція А:** молоко знежирене пастеризоване.

Розрахунок необхідних кількостей компонентів для приготування середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 10 л наведений у *табл. 5.6*.

*Таблиця 5.6*

**Розрахунок вмісту компонентів для приготування 8 л поживного середовища**

<b>Компонент поживного середовища</b>	<b>Вміст, г/л</b>	<b>Кількість для приготування 8 л середовища, л</b>	<b>Композиції</b>	<b>Об'єм композиції, V, л</b>
Пастеризоване знежирене молоко	-	7,2	А	8
<b>Конденсат</b>		<b>0,8</b>		
<b>Разом</b>		<b>8</b>		

**5.4.3. Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для виробничого біосинтезу у ферментері об'ємом 100 л**

*Композиція А:* молоко знежирене пастеризоване.

Розрахунок необхідних кількостей компонентів для приготування середовища для виробничого біосинтезу у ферментері об'ємом 100 л наведений у *табл. 5.7*.

*Таблиця 5.7*

**Розрахунок вмісту компонентів для приготування 73,7 л поживного середовища**

<b>Компонент поживного середовища</b>	<b>Вміст, г/л</b>	<b>Кількість для приготування 73,7 л середовища, л</b>	<b>Композиції</b>	<b>Об'єм композиції, V, л</b>
Пастеризоване знежирене молоко	-	66,33	А	73,7
<b>Конденсат</b>		<b>7,37</b>		
<b>Разом</b>		<b>73,7</b>		

### **5.5. Обґрунтування вибору піногасника**

Беручи до уваги той факт, що середовище складається виключно з пастеризованого знежиреного молока, то теоретично можливе невелике піноутворення. Оскільки аерація середовища буде не інтенсивна (враховуючи, що продуцент є факультативним анаеробом), тому підготовка окремого піногасника є не доречною, а саме виробниче устаткування будемо використовувати вже з вбудованим механічним піногасником.

## РОЗДІЛ 6. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Таблиця 6.1

### Специфікація обладнання ділянки допоміжних робіт та виробничого біосинтезу біомаси для отримання закваски

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика (виробник)
ПЗ – 1	Повітрозабірник	1	Повітрозбірник Тиск ударної хвилі, кгс/см <sup>2</sup> до 10 Діаметр отвору під повітровод, мм 200 Маса, кг, не більше 12 Виробник: Україна [43].
Ф – 2	Фільтр грубої очистки повітря	1	Фільтруючий матеріал – поліестер, швидкість фільтрування 3 м <sup>3</sup> /год, Е = 80 % [44].
К – 3	Компресор	1	Компресор серії «ВКП F Industrial». Кількість циліндрів/ступенів стиснення 2/2 Продуктивність, вхід л/хв 500 Продуктивність, вихід л/хв: 330 Тиск нагнітання (мах), атм 10 Потужність приводного електродвигуна, кВт 3,0 Напруга живлення, 380 Маса (кг) 122 Виробник: Україна [45].

					НУХТ БТЕК 04.03.15 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Шкіль Т.О.			РОЗДІЛ 6. Специфікація обладнання	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Буценко Л.М.					57	4
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Продовження табл. 6.1

ТО – 4	Теплообмінник-охолоджувач	1	<p>Максимальний робочий тиск: 155°C  Первинний контур: 31 бар  Вторинний контур: 31 бар  Мінімальна робоча температура: -196°C  Максимальна робоча температура: 225°C  Максимальна витрата через теплообмінник:  12 м³/год  Вага нетто: 1.5+0.116хNP кг  Матеріал припою: Чиста мідь чи нікель  Виконання підключень: різьбове, паяння,  зварювання  Виробник: Швеція [46]</p>
Р – 5	Ресивер	1	<p>D: 1220 мм  H: 3250  Вага: 1200 кг  Ємність: 3000 l  Максимальний робочий тиск: 30 бар  Під'єднання: 2"  Робоча температура: -20/50 °C  Країна виробник: Україна [47]</p>
ТН – 6	Теплообмінник-нагрівач	1	<p>Кількість повітря, м³/год: 7500  Необхідна теплова потужність,  кВт (від –100С до +200С): 80 кВт  Виробник: Україна [48]</p>
Ф – 7	Фільтр тонкої очистки	1	<p>Модель фільтра FMW.  Матеріал: мікроскловолокно  Ступінь очищення повітря 99%.  Продуктивність фільтра складає 3400 м³/год  Виробник: Україна [49]</p>

Продовження табл. 6.1

33-8 33-13	Збірник-змішувач	2	Збірник-змішувач об'ємом 200, оснащений сорочкою та перемішувальним пристроєм (100 об/хв), виготовлений зі сталі AISI 304 . Виробник: Україна [52]
Л-9 Л-15 Л-18	Лічильник	3	Бренд: Gross Довжина: 110 мм Використання лічильника: для води Вид лічильника: крильчастий Тип установки: вертикальний/горизонтальний Гарантія: 30 міс. Країна-виробник: Україна [50]
НВ-10 НВ-12 НВ-14 НВ-21	Насос відцентровий	4	Циркуляційний насос Grundfos Насос відцентровий герметичний, матеріал чугун. Продуктивність від 3,2 м <sup>3</sup> /год, Максимальний тиск – 10бар. Виробник: Данія [53]
ПУ-11	Пастеризаційна установка	1	Пастеризаційно-охолоджувальна установка Країна виробник: Україна Максимальна температура: 100 °С Мінімальна температура: 1 °С Продуктивність: 0т 500 до 30000 л/год Тип: Пластинчастий. Виробник: Attis, Україна [51]
ІН-16	Інокулятор	1	Інокулятор 10л. Об'єм: 10 л Швидкість обертання мішалки, об/хв: 20–1500 Температура, °С: 0–150 рН: 2–12 рО <sub>2</sub> , %: 0–100 Тиск (опція), бар: (-0,5) – 2 Мутність (опція), АУ: 0–6 Red/Ох-потенціал (опція), мВ: -2000 – 2000 Потужність двигуна мішалки: 10 л– 800 Вт Виконання (в залежності від моделі можливе виконання посудини з сорочкою або без) посудина з нержавіючої сталі з сорочкою і вертикальним оглядовим склом. Матеріал (контактуючий з продуктом): борсилікатне скло; нержавіюча сталь AISI 316L; EPDM Виробник: Німеччина [54]

Закінчення табл. 6.1

Ф-17 Ф-20	Індивідуальний фільтр очистки повітря	2	Стерилізуючі фільтри Матеріал: політетрафторетилен. Ступінь очищення повітря фільтром становить 99,9999 %. Виробник: Україна [55].
ФР-19	Ферментер	1	<p>Характеристики :</p> <p>робочий об'єм, л 100</p> <p>корпус на 4-х стійках з приварними еліптичними днищем та еліптичною кришкою</p> <p>тиск у корпусі, бар + 3,0</p> <p>Т-ра, у корпусі, від 5 до 150°C</p> <p>тиск у сорочці, бар до 4,0</p> <p>Т-ра, в сорочці, від 5 до 150 °С</p> <p>сорочки корпусу: теплообмінна (парова) та теплоізолююча</p> <p>Встановлена потужність , кВт: 1,54 у т.ч. приводу мішалки 1,5 приводу сідельного клапана 0,0055</p> <p>лампи у ліхтарі підсвічування (U=12В) 0,035</p> <p>Матеріал виготовлення у контакті з продуктом сталь AISI 316L</p> <p>Матеріал виготовлення не контактує з продуктом сталь AISI 304</p> <p>Чистота обробки поверхонь реактора:</p> <p>у контакті продуктом <math>Ra \leq 0,6</math></p> <p>зовнішні поверхні <math>Ra \leq 0,8</math></p> <p>зовнішніх зварних швів <math>Ra \leq 1,6</math></p> <p>Габарити реактора , мм :</p> <p>Довжина 1300</p> <p>Ширина 700</p> <p>Висота 1600</p> <p>Маса реактора, кг, не більше 210</p> <p>Виробник: Україна [56]</p>

## РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ СИНТЕЗУ БІОМАСИ ДЛЯ ЗАКВАСКИ

### ДР 1. Підготовка аераційного повітря

#### ДР 1.1. Забір атмосферного повітря

Забір повітря здійснюється повітрозбірником (ПЗ-1) Повітря збирають з висоти приблизно 20-30 м.

Потім повітря через повітрозабірну шахту під дією компресора потрапляє до фільтру попереднього очищення (ФГО-2).

#### ДР 1.2. Очищення від пилу і механічних часток.

На стадії попереднього очищення повітря видаляється основна маса великих частинок пилу діаметром 150-300 мкм. В якості фільтрів попереднього очищення використовують фільтри грубої очистки – ФЯП. Який складається з рамки, виготовленої з оцинкованої сталі, усередині якої покладений об'ємний фільтруючий матеріал (поліуретан) (ФГО-2).

Ефективність очищення повітряними фільтрами ФЯП становить 80 %.

#### ДР 1.3. Стиснення повітря

Стиснення повітря здійснюється у компресорі (К-3) при тиску 0,35–0,5 МПа, при цьому температура може підніматися до 200°C.

#### ДР 1.4. Охолодження та видалення вологи

Повітря «переохолоджують» до температури 25–40 °С в теплообміннику-охолоджувачі (ТО-4). При охолодженні стисненого повітря випадає 50 – 70 % вихідної вологи, яка відділяється вологовідділювачами.

#### ДР 1.5 Стабілізація та нагрівання повітря

Для забезпечення надійної роботи головного і індивідуального фільтрів, повітря нагрівають до температури до 60°C в теплообміннику-нагрівачі (ТН-5).

					НУХТ БТЕК 04.03.15 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 7. Опис технологічної схеми синтезу біомаси для закваски	Літ.	Арк.	Аркушів
Розроб.		Шкіль Т.О.					61	5
Перевір.		Буценко Л.М.				Кафедра БТМ		
Реценз.								
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

### *ДР 1.6. Очищення в головному фільтрі*

Подальше очищення повітря відбувається у головному фільтрі (Ф-7). Для головних фільтрів використовується фільтр ФТО-750 з ефективністю  $E = 99,92 \%$ .

### *ДР 1.7. Очищення в індивідуальному фільтрі*

Для індивідуального очищення повітря використовується фільтр тонкої очистки Ф-17, Ф-20. Стерилізацію фільтруючого матеріалу проводять парою при температурі  $145 \text{ }^\circ\text{C}$ . Отримуємо стерильне аераційне повітря зі ступенем очищення –  $99,9999 \%$ .

## ***ДР 2. Підготовка знежиреного молока***

### ***ДР 2.1 Пастеризація молока***

Перед початком виробничого біосинтезу, знежирене молоко зі склад, піддають процесу пастеризації на пастеризаційній установці (ПУ-11). Для початку молоко завантажується у збірник пастеризаційної установки (ЗЗ-8). Після чого проводять пастерилізацію молока, при температурі  $72\text{--}76 \text{ }^\circ\text{C}$  протягом  $15\text{--}30$  секунд. Процес передбачає проходження молока через кілька теплообмінників, де воно поступово нагрівається та охолоджується. Стерилізація відбувається за допомогою насиченої пари, що забезпечує знищення різних форм мікроорганізмів без значної втрати поживних властивостей молока. Після пастеризації молоко надходить до проміжного збірника-змішувача (ЗЗ-13), де тимчасово зберігається. Потім необхідну кількість пастеризованого молока подають безпосередньо до виробничого устаткування відцентровим насосом (НВ-14), а відміряють необхідну його кількість за допомогою автоматизованих лічильників (Л-15 та Л-18).

## ***ДР 3. Приготування поживних середовищ***

*ДР 3.1. Приготування поживного середовища для вирощування інокуляту в колбах на качалці*

Розрахунок необхідних кількостей компонентів для приготування середовища для вирощування посівного матеріалу у колбах на качалках

наведений у розділі 5. Розрахунок здійснений для приготування середовища об'ємом 0,8 л. Дані розрахунків заокруглено для практичної зручності.

#### ***ДР 3.1.1 Приготування композиції А***

За допомогою мірника відміряють 0,8 л пастеризованого знежиреного молока (від ДР2.1). Весь об'єм композиції наливають у колбу об'ємом 1500 мл та перемішують. Потім композицію подають на відповідний етап культивування.

#### ***ДР 3.2. Приготування поживного середовища для інокулятора 10 л.***

Розрахунок необхідних кількостей компонентів для приготування середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі наведений у розділі 5. Розрахунок здійснений для приготування середовища об'ємом 8 л. Дані розрахунків заокруглено для практичної зручності.

#### ***ДР 3.2.1 Приготування композиції А***

За допомогою автоматичного лічильника відміряють 8 л пастеризованого знежиреного молока (від ДР2.1). Весь об'єм композиції наливають безпосередньо до інокулятора (ІН-16). Оскільки, наше молоко вже пройшло процес пастеризації, додаткова стерилізація у виробничому устаткуванні даного середовища не потрібна.

#### ***ДР 3.3. Приготування поживного середовища для виробничого ферментера 100 л.***

Розрахунок необхідних кількостей компонентів для приготування середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі наведений у розділі 5. Розрахунок здійснений для приготування середовища об'ємом 73,7 л. Дані розрахунків заокруглено для практичної зручності.

#### ***ДР 3.3.1 Приготування композиції А***

За допомогою автоматичного лічильника відміряють 73,7 л пастеризованого знежиреного молока (від ДР2.1). Весь об'єм композиції наливають безпосередньо до виробничого ферментера (ФР-19). Оскільки, наше молоко вже пройшло процес пастеризації, додаткова стерилізація у виробничому устаткуванні даного середовища не потрібна.

## ***ТП 4. Підготовка посівного матеріалу***

### ***ТП 4.1. Підтримання колекційної культури***

Культуру *P. freudenreichii* зберігають у пробірках, наповнених скошеним м'ясо-пептонним агаром. Пробірки зберігаються при температурі від 2 до 4°C. Для підтримки життєздатності культури її пересівають на свіже поживне середовище кожні 1-2 тижні. Усі маніпуляції з культурою проводять за суворих правил асептики, щоб запобігти забрудненню.

### ***ТП 4.2. Одержання робочої культури***

Колекційну культуру, що зберігається в пробірках зі м'ясо-пептонним агаром, розсівають петлею із ізолюваних колоній на чашки Петрі, з м'ясо-пептонним агаром і вирощують при температурі 28 °C упродовж 24 год.

### ***ТП 4.3. Вирощування інокуляту у пробірках на агаризованих середовищах***

Отримані ізолювані колонії (від ТП 4.2) пересівають в пробірки зі скошеним з м'ясо-пептонним агаром (одна ізолювана колонія використовується для засіву однієї пробірки). У пробірки пересівають ізолювані колонії, що знаходяться на відстані не менше 1 см. Тривалість вирощування – 24 год за температурою 28°C.

### ***ТП 4.4. Вирощування інокуляту в колбах на качалках***

У стерильних умовах стерильну композицію А розподіляють порівну (по  $\approx$  266 мл) у 3 стерильні качалочні колби об'ємом 750 мл. Паралельно у пробірку з робочою культурою вносять 5 мл стерильного фізіологічного розчину, суспендують клітини (змивають культуру), піпеткою відбирають одержану суспензію і вносять у колби з розлитим поживним середовищем. Для засіву однієї колби використовують бактеріальну суспензію, одержану з однієї пробірки.

Для вирощування колби розміщують на качалках в термостат з температурою 28°C на 48 годин.

### ***ТП 4.5. Вирощування в інокуляторі об'ємом 10 л***

До інокулятора зі стерильною композицією А (від ДР 3.2.1), через засівну колбу вносять посівний матеріал (згідно з технологічним процесом

ТП 4.4). Культивування проводять при температурі 28°C протягом 48 годин. Для підтримання необхідного рівня розчиненого кисню (pO<sub>2</sub>) регулюють швидкість обертання мішалки на 150 обертів за хвилину. Кожні 4 години з інокулятора відбирають проби культуральної рідини для мікробіологічного аналізу.

### ***ТП 5. Біосинтез***

#### ***ТП 5.1. Виробниче культивування***

До виробничого ферментера зі стерильною композицією А (від ДР 3.3.1), через трубу перетискування перекачують посівний матеріал з минулої стадії підготовки інокуляту (від ТП 4.5). Культивування проводять при температурі 28°C протягом 48 годин. Регулюють швидкість обертання мішалки на 150 обертів за хвилину. Кожні 4 години з інокулятора відбирають проби культуральної рідини для мікробіологічного аналізу.

## РОЗДІЛ 8. ЕТАПИ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ ЦІЛЬОВОЇ БІОМАСИ

Закваски для хліба є важливим компонентом у процесі виробництва хліба. Виділяють такі основні ефекти використання хлібопекарських заквасок: покращення кислотності тіста та забезпечення належного підвищення швидкості та ефективності ферментації тіста, текстури та консистенції хліба, зменшення часу виробництва та забезпечення більш стабільного та передбачуваного процесу виробництва, покращення смаку та аромату хліба. Крім того, хлібопекарська закваска є дуже цікавою природною консервуючою системою для подовження терміну зберігання хліба. Біоконсервація – це подовження терміну зберігання та підвищення безпеки харчових продуктів за допомогою мікроорганізмів або їх метаболітів [1].

У нашому випадку після культивування одержуємо молоко з культурою штаму *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* NBIMСС, що є фактично і культуральною рідиною, і кінцевим продуктом – закваскою для приготування хліба.

Таким чином, слід визначитись із наступними стадіями, які будуть проводитись над одержаною культуральною рідиною.

Оскільки у попередньому курсовому проєкті було запропоновано додавати 10% закваски до тіста [2] для виробництва крафтового хліба, що сприятиме запобіганню бактеріального псування, частину отриманої закваски будемо фасувати у контейнери об'ємом по 5 л та направляти одразу до крафтових пекарень, що займаються виготовленням хліба.

Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	НУХТ БТЕК 04.03.15 КР ПЗ			
Розроб.		Шкіль Т.О.			РОЗДІЛ 8. Етапи виділення та очищення цільової біомаси	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Буценко Л.М.					66	4
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Рідкі закваски вітчизняного (Lesaffre) та закордонного виробництва (IREKS GmbH (Німеччина), ULDO (Польща), Dr. Suwelack (Німеччина)), що представлені на ринку України, випускаються у полімерних каністрах від 11 до 12,5 кг [57-60].

Потреба у заквасці становить 5500 л на рік. Тому ми приймемо фасування у полімерні каністри по 5 кг, зважаючи на невеликі обсяги виробництва хліба крафтовими пекарнями і відповідні об'єми закваски для приготування такої кількості хліба.

Інша частина культуральної рідини, одержаної після заквашування молока культурою *P. freudenreichii* ssp. *shermanii* NBIMCC, йтиме на виготовлення сухої закваски, що дозволить подовжити термін її зберігання та принесе додаткові прибутки нашому біотехнологічному виробництву.

Основна частина заквасок, що містять *P. freudenreichii*, в даний час виробляється у вигляді сухих порошоків. Справді, до розробки концентрованих та сухих заквасок комерційні закваски спочатку постачалися лише у рідкій формі. На промислових виробництвах спочатку проводили пересів, щоб виготовити проміжні та кінцеві закваски для проведення ферментацій. Подальший розвиток у біотехнологічному виробництві біомаси для заквасок обумовив початок виробництва замороженої біомаси та ліофілізованих культур для прямої інокуляції безпосередньо у ферментери. Сухі закваски виключають внутрішньозаводське пересівання, знижують витрати, пов'язані з підготовкою оптових культур, знижують ризик зараження бактеріофагами, а також мікробного забруднення [61].

Так, у доступних літературних джерелах наведено патент 1998 року, присвячений одержанню бактеріальної закваски «Симбітер», що містить у своєму складі симбіоз біфідобактерій, молочнокислих, пропіоновокислих (культуру *P. freudenreichii*) і оцтовокислих бактерій [62].

Згідно з винаходом [62], закваску отримували двох видів: рідку та суху.

Для приготування рідкої закваски інокулянт вносять у стерильне молоко в кількості 1-5%. Молоко із закваскою перемішують і витримують при температурі 33-35°C протягом 8-16 год до утворення щільного в'язкого згустку. Сквашене молоко перемішують і розфасовують у стерильні ємності порціями по 10-20 см<sup>3</sup>.

Для отримання сухої закваски рідку закваску висушують методом сублімації при наступних режимах: заморожування при  $-40\pm 2^\circ\text{C}$  протягом 4-24 год, сушіння при початковій температурі  $-40\pm 2^\circ\text{C}$  та кінцевій температурі  $+30\pm 2^\circ\text{C}$  [62].

Сучасні наукові дані підтверджують, що біомаса *P. freudenreichii* ліофілізується без суттєвого пошкодження клітин, тому класично спостерігається понад 50% виживання, незалежно від використовуваного середовища для вирощування [61].

Оскільки клітини біологічного агента містяться у молоці, заквашеному цією культурою, фактично це і є захисним середовищем для ліофілізації.

Тому другу частину закваски будемо розливати у попередньо підготовлені флакони порціями по 5 мл, які будемо прикривати ліофільними пробками. Після цього буде проходити ліофілізація наступним чином - : заморожування при  $-40\pm 2^\circ\text{C}$  протягом 4-24 год, сушіння при початковій температурі  $-40\pm 2^\circ\text{C}$  та кінцевій температурі  $+30\pm 2^\circ\text{C}$  [62].

Флакони з ліофілізованою культурою в асептичних умовах закупорюють стерильними пробками, металевими ковпачками, маркують, пакують та закладають на зберігання за температури 4°C [63].

Нижче представлено узагальнену схему, що зображує розподіл рідкої закваски на виробництво хліба та одержання сухої закваски – див. рис. 8.1.

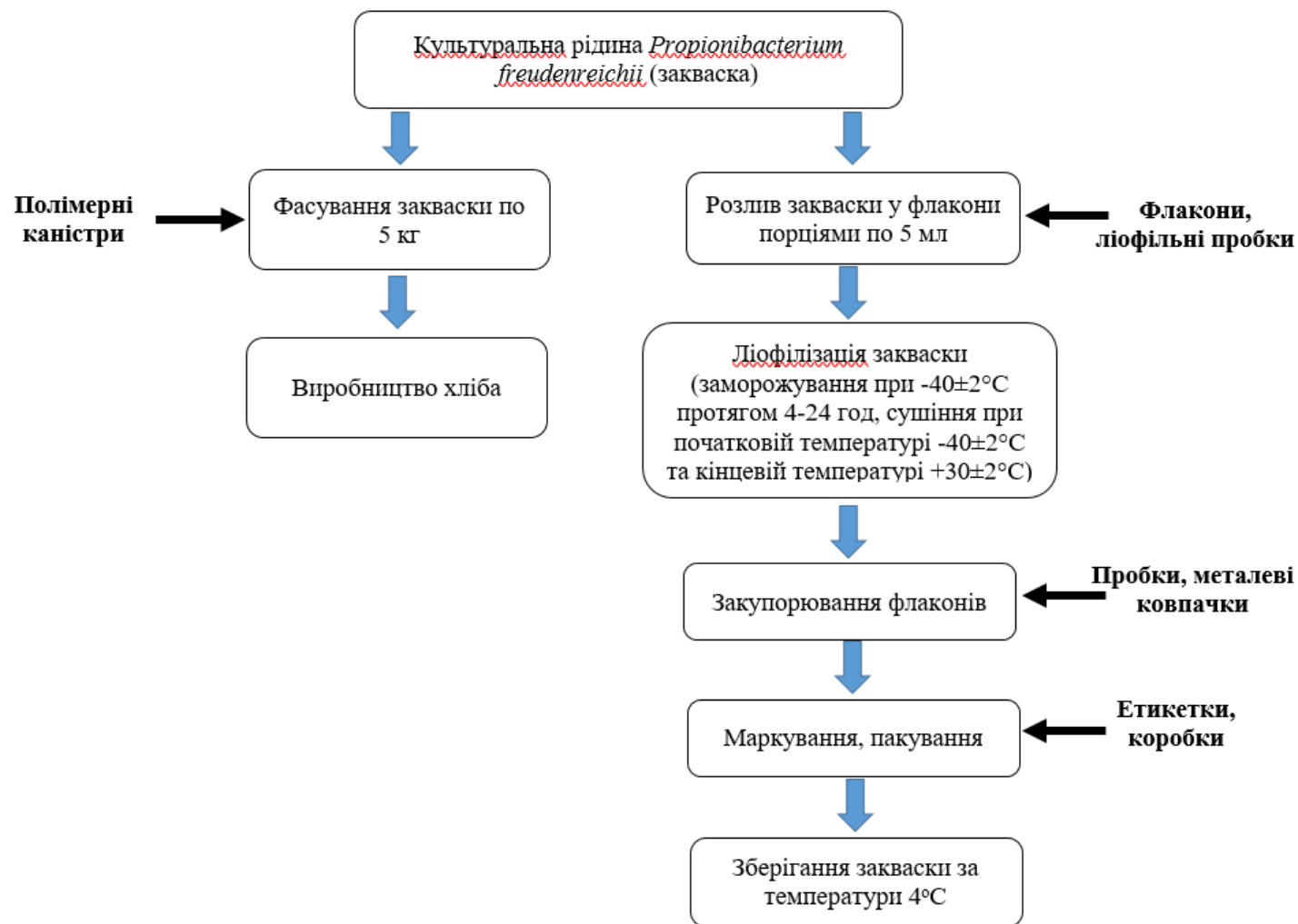


Рис. 8.1. Післяферментаційні стадії, що проводяться після заквашування молока культурою *P. freudenreichii* ssp. *shermanii* NBIMСС.

## РОЗДІЛ 9. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА БІОМАСИ ДЛЯ ОТРИМАННЯ ЗАКВАСКИ

### 9.1. Мікробіологічний контроль

Кожні 4 год з ферментера відбирають 20 мл зразку культуральної рідини для аналізу.

Мікробіологічний контроль здійснюється двома шляхами: мікроскопіюванням та висів на агаризовані поживні середовища.

Мікроскопічне дослідження здійснюють за допомогою світлового мікроскопа. Для підготовки мікропрепарату на чисте, знежирене предметне скло в асептичних умовах наносять невелику краплю культуральної рідини за допомогою стерильної бактеріологічної петлі. Отриману краплю рівномірно розподіляють по поверхні скла, формуючи мазок діаметром приблизно 1 см. Після цього мазок висушують при кімнатній температурі без застосування нагрівання до повного випаровування залишків вологи. На повністю висушений препарат наносять 1–2 краплі імерсійної олії за допомогою скляної палички, після чого здійснюють мікроскопіювання. У полі зору мають спостерігатися лише клітини біологічного агента *P.freudenreichii*: тонкі, палочкоподібні бактерії (від прямих до злегка зігнутих). Розмір: 2–5 мкм у довжину, 0,5–0,8 мкм у ширину. Розташування: можуть зустрічатися поодинокі, парами або короткими ланцюжками. Грампозитивні (+) – добре фарбуються за Грамом. Не утворюють спор. Після роботи ваткою, змоченою етиловим спиртом, знімають залишки олії з імерсійного об'єктива [64].

					НУХТ БТЕК 04.03.15 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Шкіль Т.О.			РОЗДІЛ 9. Контроль виробництва біомаси для отримання закваски	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Буценко Л.М.					70	6
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Для оцінки мікробіологічної чистоти культуральну рідину висівають на поживні середовища з метою виявлення наявності сторонньої мікрофлори. Зокрема, для виявлення бактерій використовують чашки Петрі з м'ясо-пептонним агаром (МПА), які інкубують протягом 24–28 годин при температурі  $28 \pm 2$  °С. Для виявлення дріжджів і пліснявих грибів використовують сусло-агар (СА) або глюкозо-картопляний агар (ГКА), при цьому чашки інкубують упродовж 7 діб за тієї ж температури.

У стерильних умовах за допомогою піпетки відбирають 0,1 мл досліджуваної суспензії та вносять її в центр чашки Петрі. Шпатель Дригальського попередньо стерилізують полум'ям і охолоджують, торкаючись внутрішньої поверхні кришки чашки. Потім суспензію рівномірно розподіляють по поверхні поживного середовища стерильним шпателем. Після цього чашки перевертають, обгортають у папір і поміщають у термостат.

Після закінчення інкубаційного періоду проводять візуальну оцінку результатів посіву з метою виявлення колоній сторонньої мікрофлори [64].

## 9.2. Показники якості молока

Визначення якості молока будемо проводити, за допомогою автоматизованого аналізатора молока Екомілк Бонд [65]. Нижче наведено спектр всіх можливих перевірок показників за допомогою аналізатора.



Рис. 9.1. Аналізатор молока ЕКОМІЛК БОНД [65].

Ультразвуковий аналізатор ЕКОМІЛК Бонд без застосування будь-яких хімічних реактивів робить аналіз якісних показників складу молока.

Серед вимірюваних параметрів:

- процентний вміст жиру (Fat),
- процентний вміст білка (Protein),
- сухий знежирений молочний залишок СЗМЗ (SNF),
- кислотність у рН і градусах Тернера (Th0),
- вміст доданої води (Added water), тобто фальсифікація молока,
- щільність (Density),
- температура молока,
- точка замерзання (Freezing point),
- лактоза (Lactose),
- провідність (Conductivity): визначення доданих у молоко солей, миючих та інгібуючих речовин, а також визначення в молоці підвищеного вмісту соматичних клітин (мастити вимені у корів) і т. і.

Широко використовуються для контролю якості молока в:

- заводських і ветеринарних лабораторіях,
- приймальних пунктах,
- міні-заводах,
- молочних фермах.

Аналізатор володіє:

- високою точністю вимірювання,
- надійністю,
- простотою в обслуговуванні,

Стандартні параметри:

- Вміст жиру (Fat): 0.1% - 9.0%  $\pm$  0.1%;
- Вміст СЗМЗ (SNF): 6% - 12%  $\pm$  0.2%;
- Щільність (Density): 1,020 - 1,040g / cm<sup>3</sup>  $\pm$  0.0005g / cm<sup>3</sup>;
- Білок (Protein): 2% - 6%  $\pm$  0.15%;

- Додана вода (Added water): 0,00 - 60% ± 3%;
- Точка замерзання (Freezing point): -0,400 - -0,6500C ± 0,010 0C;
- Температура проби t0: 0 - 500C ± 0,50C
- Кислотність рН: 0.00 - 14 рН ± 0.05;
- Провідність (Conductivity): 2 - 20 mSm / cm +/- 0,3%;
- Лактоза (Lactose): 0.5 - 7,0% ± 0,2%;
- Кислотність Th0: 10 - 30Th0 ± 1,5Th (градуси Тернера) [65].

### **9.3. Визначення кількості колонієутворюючих одиниць**

Методика визначення кількості колонієутворюючих одиниць (КУО) передбачає підрахунок кількості мікроорганізмів у зразку шляхом вирощування колоній на поживних середовищах та їх подальшого підрахунку. Це кількісний метод, який використовується для оцінки мікробного забруднення різних об'єктів, таких як вода, повітря, харчові продукти та інші [66].

Основні етапи методики визначення КУО:

#### **1. Відбір проб:**

В залежності від об'єкта дослідження, зразки відбираються за допомогою різних методів, наприклад, за допомогою спеціальних приладів для повітря, або шляхом розведення рідких зразків.

#### **2. Засівання на поживні середовища:**

Відібрані зразки або їх розведення наносяться на відповідні поживні середовища в чашках Петрі.

#### **3. Інкубація:**

Чашки з посівами інкубуються при певній температурі та часі, що сприяє росту колоній мікроорганізмів.

#### **4. Підрахунок колоній:**

Після інкубації підраховують кількість окремих колоній, кожна з яких походить від однієї мікробної клітини.

#### **5. Розрахунок КУО/мл:**

Кількість колоній помножується на відповідний коефіцієнт розведення для отримання значення КУО в одиниці об'єму (наприклад, в 1 мл) або одиниці маси [66].

Загальна формула для розрахунку КУО [66]:

$$\text{КУО/мл (або КУО/м}^3\text{)} = (\text{Загальна кількість колоній} / \text{Об'єм зразка, внесений у чашку}) * \text{Коефіцієнт розведення.}$$

Середовище, яке будемо використовувати для вирощування продуцента, це середовище МРА (Modified Propionibacterium agar). Має такий склад [67]:

триптон — 10 г/л,

дріжджовий екстракт — 5 г/л,

глюкоза — 10 г/л,

лактат натрію — 10 г/л,

агар — 15 г/л.

Значення рН  $7,0 \pm 0,2$  [67].

#### 9.4. Визначення кількості біомаси

Визначення проводять гравіметричним методом, тобто ваговим [68].

Відбирають пробу культуральної рідини. Зважують порожню центрифужну пробірку. Наливають 5 мл проби культуральної рідини. Зважити пробірку з культуральною рідиною. Проводять центрифугування при 3000 об/хв. протягом 15 хв. Супернатант зливають. Осад промивають водою і пробірки знову центрифугують протягом 10 хв при 3000 об/хв.

Після цього зливають супернатант та повторно зважують пробірку. Проводять визначення маси за формулою:

$$M = \frac{(A-B)1000}{V}$$

М - суха біомаса в г/л; А - маса центрифужної пробірки з осадом, грами; В - маса центрифужної пробірки без осаду, грами; V – об'єм проби культуральної рідини [68].

## 9.5. Карта контролю виробництва біомаси

Таблиця 9.1

### Карта постадійного контролю

Номер контрольної точки та назва стадії	Об'єкт контролю і показник, що визначається	Засоби та методи контролю	Періодичність перевірки та порядок відбору проб	Нормативна характеристика показника, що визначається
Кт 1.2 Проходження через фільтри грубої очистки	Повітря на виході з фільтра грубого очищення, ступінь очищення, перепад тисків	Манометр, перевірка ступеня очищення згідно паспорту фільтра	Після очистки повітря у фільтрі грубого очищення	E = 90 %, тиск згідно паспорту
Кт 1.3 Компресування	Повітря на виході з фільтра, ступінь очищення, перепад тисків	Манометр, перевірка ступеня очищення згідно паспорту фільтра	Після очистки повітря у фільтрі грубого очищення	P=0,35–0,5 МПа t=120-200 °C
Кт 1.4 Подача повітря у теплообмінник-охолоджувач та видалення вологи	Охолоджене повітря	Термометр технічний	Під час проведення операції	t = 20°C W=60°
Кт 1.5 Подача повітря на підігрів	Нагріте повітря, температура	Термометр технічний	Після нагрівання повітря	t = 30-35 °C
Кт 1.6 Пропускання через головні фільтри очистки	Очищене повітря	Перевірка ступеня очищення	Під час проведення операції 1 раз на тиждень	E = 95 %
Кт 1.7 Очищення шляхом проходження через індивідуальні фільтри	Очищення повітря в індивідуальному фільтрі	Перевірка ступеня очищення	Під час проведення операції 1 раз на місяць	E = 99,999 %
Кт 2.1 Пастеризація молока	Пастеризація	Фізичний метод, Манометр, Годинник.	Перед початком кожного виробничого циклу	P=2Атм, N=150л/год

Продовження таблиці 9.1

Кт, Км 3.1.1 Приготування композиції А	Композиція А, стерильність	Мікробіологічний контроль	Мікробіологічний контроль після пастеризації	Відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.2.1 Приготування композиції А	Композиція А, стерильність	Мікробіологічний контроль	Мікробіологічний контроль після пастеризації	Відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.3.1 Приготування композиції А	Композиція А, стерильність	Мікробіологічний контроль	Мікробіологічний контроль після пастеризації	Відсутність мікробіоти
Кт, Км 4.1 Підтримання колекційної культури	Температура, час, мікробіологічна чистота	Термометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час збереження, мікробіологічний контроль після збереження	t = 2-4 °С пересів 1 раз на 2-3 місяці відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км 4.2 Одержання робочої культури	Тривалість культивування, температура, мікробіологічна чистота	Термометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час культивування, мікробіологічний контроль після культивування	t = 28 <sup>0</sup> С, τ = 24 год, відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км 4.3 Вирощування культури на агаризованих середовищах	Тривалість культивування, температура, мікробіологічна чистота	Термометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль	Температура визначається безперервно під час культивування, мікробіологічний контроль після культивування	t = 28 <sup>0</sup> С, τ = 24 год, відсутність сторонньої мікробіоти

Закінчення таблиці 9.1

<p>Кт, Км 4.4 Вирощування культури в колбах на качалках</p>	<p>Посівний матеріал, тривалість вирощування, температура, швидкість перемішування, мікробіологічна чистота культури</p>	<p>Термометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура, час і кількість обертів мішалки визначається безпосередньо під час виробничого процесу.</p>	<p><math>t = 28^{\circ}\text{C}</math>, <math>\tau = 48</math> год, 240 об/хв, Відсутність сторонньої Мікробіоти</p>
<p>Кт, Км, 4.5 Вирощування в інокуляторі 10 л</p>	<p>Посівний матеріал, тривалість вирощування, температура, швидкість перемішування, мікробіологічна чистота культури</p>	<p>Термометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура, час і кількість обертів мішалки визначається безперервно під час виробничого процесу.</p>	<p><math>t = 28^{\circ}\text{C}</math>, <math>\tau = 48</math> год, Відсутність сторонньої Мікробіоти</p>
<p>Кт, Км, 4.5 Виробниче культивування</p>	<p>Посівний матеріал, тривалість вирощування, температура, швидкість перемішування, мікробіологічна чистота культури</p>	<p>Термометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль</p>	<p>Температура, час і кількість обертів мішалки визначається безперервно під час виробничого процесу.</p>	<p><math>t = 28^{\circ}\text{C}</math>, <math>\tau = 48</math> год, Відсутність сторонньої Мікробіоти</p>

## ЛІТЕРАТУРА

1. Науменко О. В., Червінський В. О. Хлібопекарські закваски з протигрибковою дією. *Продовольчі ресурси*. 2023. Т. 11, № 20. С. 88-98.
2. Denkova, R., Ilieva, S., Denkova, Z., Georgieva, L., Yordanova, M., Nikolova, D., & Evstatieva, Y. (2014). Production of wheat bread without preservatives using sourdough starters. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 28(5), 889-898.
3. Соломон А. М., Казмірук Н. М., Тузова С. М. Мікробіологія харчових виробництв. Вінниця: ВНАУ 2020. 327.
4. Ercolini, D., Pontonio, E., De Filippis, F., Minervini, F., La Storia, A., Gobbetti, M., & Di Cagno, R. (2013). Microbial ecology dynamics during rye and wheat sourdough preparation. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(24), 7827-7836.
5. de Rezende Rodovalho, V., Rodrigues, D. L. N., Jan, G., Le Loir, Y., de Carvalho Azevedo, V. A., & Guédon, E. (2021). *Propionibacterium freudenreichii*: General characteristics and probiotic traits. *Prebiotics and Probiotics-From Food to Health*.
6. Danilova, I. V., Lee, H. A. O., Tourova, T. P., Ryzhkova, E. P., & Netrusov, A. I. (2012). *Propionibacterium freudenreichii* strains as antibacterial agents at neutral pH and their production on food-grade media fermented by some lactobacilli. *Journal of Food Safety*, 32(1), 48-58.
7. Xu, D., Zhang, Y., Tang, K., Hu, Y., Xu, X., & Gänzle, M. G. (2019). Effect of mixed cultures of yeast and lactobacilli on the quality of wheat sourdough bread. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2113.
8. Bockwoldt, J. A., Fellermeier, J., Steffens, E., Vogel, R. F., & Ehrmann, M. A. (2021).  $\beta$ -Glucan production by *Levilactobacillus brevis* and *Pediococcus claussenii* for in situ enriched rye and wheat sourdough breads. *Foods*, 10(3), 547.
9. Piwowarek, K., Lipińska, E., Hać-Szymańczuk, E., Kieliszek, M., & Ścibisz, I. (2018). *Propionibacterium* spp.-source of propionic acid, vitamin B12,

and other metabolites important for the industry. *Applied microbiology and biotechnology*, 102(2), 515–538. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8616-7>

10. Zárate, Gabriela. (2012). Dairy Propionibacteria: Less Conventional Probiotics to Improve the Human and Animal Health. *Probiotic in Animals*. 153-202. 10.5772/50320.

11. *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *freudenreichii*. Taxonomy ID: 66712 [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=66712>

12. Віталій В. Чередніченко (2024) Формування ціни на хлібобулочні вироби міні-пекарень в умовах енергетичної кризи. Актуальні проблеми економіки. 8 (278), 78-87. [Електронний ресурс]. Режим доступу: [https://eco-science.net/wp-content/uploads/2024/08/8.24.\\_topic\\_Vitalii-%D0%A1herednichenko-78-87.pdf](https://eco-science.net/wp-content/uploads/2024/08/8.24._topic_Vitalii-%D0%A1herednichenko-78-87.pdf)

13. Savchenko, Olesya & Kalinichenko, Yuliia. (2019). Технологія виготовлення житньо-пшеничного хліба на заквасках із використанням базиліку. *Technical sciences and technologies*. 183-191. 10.25140/2411-5363-2019-4(18)-183-191.

14. Лабораторний практикум з мікробіології : підручник / за ред. В. І. Кривенка. Київ : НТУ "КПІ", 2008. 320 с.

15. Науково-технологічні аспекти технологій хліба з використанням заквасок / І. А. Гетьман, О. В. Науменко, Г. С. Богдан, Л. А. Михонік // Інноваційні технології в хлібопекарському виробництві. Здобутки та перспективи розвитку кондитерської галузі : матеріали Міжнародних науково-практичних конференцій. – Київ : НУХТ, 2023. – С. 21-23.

16. Через війну кількість хлібозаводів в Україні скоротилася на 20% [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://delo.ua/agro/cerez-viinu-kilkist-xlibozavodiv-v-ukrayini-skorotilasya-na-20-407518/>

17. Кав'ярні стали рекорсменами: як змінилась кількість закладів в Україні від початку війни? [Електронний ресурс]. Режим доступу:

[https://visitukraine.today/uk/blog/3914/coffee-shops-have-become-record-holders-how-has-the-number-of-establishments-in-ukraine-changed-since-the-beginning-of-the-war?srsltid=AfmBOorU7Jq4rsNGBsW-CcgZJESq36SWK5h\\_UDsH8cBjmxWf0dBsCGD2#skilki-zakladiv-zakrilos-ta-vidkrilos-pid-cas-viini-v-ukraini](https://visitukraine.today/uk/blog/3914/coffee-shops-have-become-record-holders-how-has-the-number-of-establishments-in-ukraine-changed-since-the-beginning-of-the-war?srsltid=AfmBOorU7Jq4rsNGBsW-CcgZJESq36SWK5h_UDsH8cBjmxWf0dBsCGD2#skilki-zakladiv-zakrilos-ta-vidkrilos-pid-cas-viini-v-ukraini)

18. Дослідження ринку пшеничного хліба та прісних борошняних виробів України. 2019 – 2020 рр. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://pro-consulting.ua/ua/issledovanie-rynka/issledovanie-rynka-pshenichnogo-hleba-i-presnyh-muchnyh-izdelij-ukrainy-2019-2020-gg>

19. Скільки людей зараз лишилося в Україні: демограф назвав число [Електронний ресурс]. Режим доступу: [https://24tv.ua/naselennya-ukrayini-2025-skilki-ukrayintsiv-lishilosya-krayini\\_n2738435](https://24tv.ua/naselennya-ukrayini-2025-skilki-ukrayintsiv-lishilosya-krayini_n2738435)

20. Експерти повідомили, що буде з цінами на хліб перед святами [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://socportal.info/ua/news/eksperti-povidomili-shcho-bude-z-tcinami-na-khlib-pered-svyatami/>

21. Denkova, R., Ilieva, S., Denkova, Z., Georgieva, L., Yordanova, M., Nikolova, D., & Evstatieva, Y. (2014). Production of wheat bread without preservatives using sourdough starters. *Biotechnology, biotechnological equipment*, 28(5), 889–898. <https://doi.org/10.1080/13102818.2014.965057>

22. Основи проектування біотехнологічних виробництв [Електронний ресурс]: метод. рекомендації до викон. курс. проекту для здобувачів вищої освіти освіт. ступ. «бакалавр» спец.162 ««Біотехнології та біоінженерія» осв.-проф. прогр. «Біотехнології: фармацевтична, промислова, харчова, природоохоронна» ден. форми навч./ уклад. Т.П. Пирог, Ю.В. Карлаш, В.О. Красінько. – К.: НУХТ, 2022. – 79 с.

23. Glycolysis / Gluconeogenesis - *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* CIRM-BIA1 [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.kegg.jp/entry/pfr00010>

24. Galactose metabolism - *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* CIRM-BIA1 [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.kegg.jp/entry/pfr00052>

25. Citrate cycle (TCA cycle) - *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* CIRM-BIA1 [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.kegg.jp/entry/pfr00020>

26. Ammar, E. M., Jin, Y., Wang, Z., & Yang, S. T. (2014). Metabolic engineering of *Propionibacterium freudenreichii*: effect of expressing phosphoenolpyruvate carboxylase on propionic acid production. *Applied microbiology and biotechnology*, 98, 7761-7772.

27. Yang, H., Wang, Z., Lin, M., & Yang, S. T. (2018). Propionic acid production from soy molasses by *Propionibacterium acidipropionici*: Fermentation kinetics and economic analysis. *Bioresource technology*, 250, 1-9.

28. Реактор-ферментер РФ-100 для біологічних препаратів [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://promvit.com.ua/reaktor-dlya-proizvodstva-sredstv-zashhity-rabochim-obemom-100-l/>

29. Стерилізація аераційного повітря [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://bioengineering.kpi.ua/attachments/article/277/%D0%93%D0%BB%D0%B0%D0%B2%D0%B0%206.%D0%A7%D0%B0%D1%81%D1%82%D1%8C2.pdf>

30. Механічні перемішуючі пристрої [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://studfile.net/preview/3763593/page:6/>

31. Лебединець, В. О. "Підготовка персоналу підприємства з виробництва лікарських засобів при впровадженні та в умовах функціонування системи управління якістю." Управління, економіка та забезпечення якості в фармації 1 (2014): 28-35. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://dSPACE.nuph.edu.ua/bitstream/123456789/5279/1/%D0%A1%D1%82%D>

[1%80%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D1%86%D1%8B%20%D0%B8%D0%B7%20UEC\\_1\\_2014-5.pdf](#)

32. ОСНОВНІ ЕТАПИ ФОРМУВАННЯ СИСТЕМ УПРАВЛІННЯ ЯКІСТЮ ПІДПРИЄМСТВ З ВИРОБНИЦТВА ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

[Електронний ресурс] Режим доступу:

<https://dspace.nuph.edu.ua/bitstream/123456789/10047/1/%D0%9C%D0%B5%D1%82%D0%BE%D0%B4%D0%B8%D1%87%D0%BD%D1%96%20%D1%80%D0%B5%D0%BA%D0%BE%D0%BC%D0%B5%D0%BD%D0%B4%D0%B0%D1%86%D1%96%D1%97%201%20-%20%D0%9E%D1%81%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D0%BD%D1%96%20%D0%B5%D1%82%D0%B0%D0%BF%D0%B8%20%D1%84%D0%BE%D1%80%D0%BC%D1%83%D0%B2%D0%B0%D0%BD%D0%BD%D1%8F%20%D0%A1%D0%A3%D0%AF%20%D0%9F%D0%92%D0%9B%D0%97%20-%20%D1%80%D0%B5%D0%B4%D0%B0%D0%BA%D1%82%D0%BE%D0%B2%D0%B0%D0%BD%D1%96%20%D0%9D%D0%A2%D0%9C%D0%A2.pdf>

33. Карлаш Ю.В., Красінько В.О. Основи проєктування біотехнологічних виробництв [Електронний ресурс]: Навч. посібник. – К.:НУХТ, 2022. –373 с.

34. ДЕЗІНФЕКЦІЯ [Електронний ресурс] Режим доступу:

<https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/9855/dezinfekciya>

35. Компоненти для виробництва миючих засобів [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.systopt.com.ua/article-komponenty-dlya-proyvodstva-moyushhyh-sredstv?srsId=AfmBOoqmw6s84UCoVqUQZ5HAP1pGqLBCXVWyS2KkPUtu5eNpmV78MZ3G>

36. Кабінет Міністрів України. Постанова Про затвердження Технічного регламенту мийних засобів [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/717-2008-%D0%BF#Text>

37. Shulga, M. O., N. Hrehirchak, and O. Slobodyan. "ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ САНІТАРНОЇ ПІДГОТОВКИ ПРИМІЩЕНЬ ДЛЯ ВИРОБНИЦТВА АМІНОКИСЛОТИ ТРИПТОФАНУ." SWorldJournal 11-01 (2022): 35-40. DOI: 10.30888/2663-5712.2022-11-01-054 [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://sworldjournal.com/index.php/swj/article/view/swj11-01-054/2237>

38. АНТИСЕПТИЧНІ ТА ДЕЗІНФЕКЦІЙНІ ЗАСОБИ [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://ev.vue.gov.ua/wp-content/uploads/2020/05/%D1%81%D1%82%D0%B0%D1%82%D1%82%D1%8F-%D0%B4%D0%BB%D1%8F-%D0%95%D0%BD%D1%86%D0%B8%D0%BA%D0%BB%D0%BE%D0%BF%D0%B5%D0%B4%D1%96%D1%97.pdf>

39. Сода каустична [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://prom.ua/ua/p1649369789-soda-kausticheskaya-5kg.html?&primelead=My42>

40. Біомой [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://prom.ua/ua/p1377979018-biomoj.html>

41. Дезекон [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://prom.ua/ua/p1537967088-dezekon-flakon-dozator.html>

42. Хлорантоїн [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://prom.ua/ua/p276027906-hlorantoin.html>

43. Коробка для встановлення на повітрязаборі К-МК [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://ccktm.prom.ua/ua/p1766406511-korobka-dlya-ustanovki.html>

44. Фільтруючий матеріал G4 від NEW FILTER [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://newfilter.com.ua/ua/ventilacia/filtruyuchiy-material-g4.html>

45. Компресор ВКП F АВ 515-10-200 [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://kompresor.kiev.ua/katalog/porshnevye-kompresory/vkp-f-seriya-industrial76/kompresor-vkp-f-ab-515-10-200.html>

46. Пластинчастий теплообмінник SWEP B10THx20 [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://termoprom.com.ua/teploobmenniki/po-tipu/plastinchatye-teploobmenniki/plastinchatyy-teploobmennik-swep-b10thx20>

47. Ресивер стиснутого повітря 3000l 30 бар, КР-3000-30 [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://pneumatyka.com.ua/products/zbiornik-sprezonego-powietrza-3000l-30bar/>

48. Система підігріву повітря [Електронний ресурс] Режим доступу: [https://www.galactic.kiev.ua/pages/painting\\_cameras\\_equipment/air\\_heating\\_system.php](https://www.galactic.kiev.ua/pages/painting_cameras_equipment/air_heating_system.php)

49. Фільтр тонкого очищення повітря (ФТОВ, НЕРА, ХЕПА) [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://tehnofilter.ub.ua/ru/goods/view/6364274/all/filtr-tonkoy-ochistki-vozduha-ftov-hepa-hepa/>

50. Лічильник гарячої води Gross ETR-C(H) 15/110 R 50H/40V без згонів [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://epicentrk.ua/ua/shop/lichylnyk-hariachoi-vody-gross-etr-c-h-15-110-r-50h-40v-bez-zghoniv.html>

51. Пастеризаційно-охолоджувальна установка 1т/год, 2т/год, 3т/год, 5т/год, 10т/год, 15т/год, 20т/год, 25т/год, 30т/год [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://attis.all.biz/uk/pasteryzacijno-oholodzhuvalna-ustanovka-1tgod-g16687414>

52. 210 Litre, 3 Bar Internal, 3 Bar Jacket, 316L Stainless Steel Reactor [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://perryvidex.eu/product/210-ltr-3-fv-bar-int-3-fv-var-jkt-h3932-1>

53. Циркуляційний насос Grundfos UPS 25-60-130 (96281476) [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://modernsys.com.ua/tsirkulyatsionnyy-nasos-grundfos-ups-25-60-130-19121.html>

54. Biostat® Cplus [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://sartorius.com.ua/fermenteri-i-bioreaktori/sterilizuyemi-na-misczi-fermenteri-bioreaktori-cip/biostat-cplus/>
55. Стерилізуючі фільтри для газів [Електронний ресурс] Режим доступу: <http://novafilter.tech/products/f%D1%96ltri/steril%D1%96zuyushh%D1%96/dl-ya-gaz%D1%96v>
56. Реактор-ферментер РФ-100 для біологічних препаратів [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://promvit.com.ua/reaktor-dlya-proizvodstva-sredstv-zashhity-rabochim-obemom-100-l/>
57. Рідка закваска Рітеза Світла Livendo™ 11,0 кг [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://arianta.com.ua/product/ridka-zakvaska-riteza-svitla-livendo-110-kg/>
58. РІДКА ЖИТНЯ ЗАКВАСКА [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://masteringredients.ua/product/ridka-zhytnya-zakvaska/>
59. Закваска рідка Житня Темна Uldo [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://grande-dolce.com.ua/ua/p1137143606-zakvaska-ridka-zhitnya.html>
60. Закваска для хліба житня рідка Dr. Suwelack, 12 кг [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://pekar-konditer.com.ua/uk/zakvaska-dlya-hliba-jitnya-ridka-dr-suwelack-15-kg>
61. Jeantet, R., & Jan, G. (2021). Improving the drying of *Propionibacterium freudenreichii* starter cultures. *Applied microbiology and biotechnology*, 105(9), 3485–3494. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11273-3>
62. Спосіб одержання бактеріальної закваски "Симбітер" і спосіб виробництва бактеріального концентрату з її використанням для кисломолочних продуктів: пат. 10367 Україна: С12N1/20, А23С9/127, А61К35/74, А61Р1/00, А61Р31/00, С12R1/01, С12R1/02, С12R1/46. №94010088; заявл. 16.12.1993; опубл. 31.08.1998. 13 с. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://iprop-ua.com/inv/feuyj056/> .

63. Басюл О. В. Вплив складу захисних середовищ на збереження життєздатності та біотехнологічних властивостей ліофілізованих бактерій *Lactobacillus plantarum* ONU315 / О. В. Басюл, Г. В. Ямборко, В. О. Іваниця // Вісн. Одес. нац. ун-ту. Біологія. - 2014. - 19, вип. 1. - С. 9-15.

64. Пирог Т. П., Ігнатова О. А. Загальна біотехнологія: Підручник. - К.: НУХТ, 2009. - 336 с.

65. Аналізатор молока Екомілк Бонд (120 сек, з принтером) [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://ikf.com.ua/analizator-moloka-ekomilk-bond-120-sek-z-prynterom/>

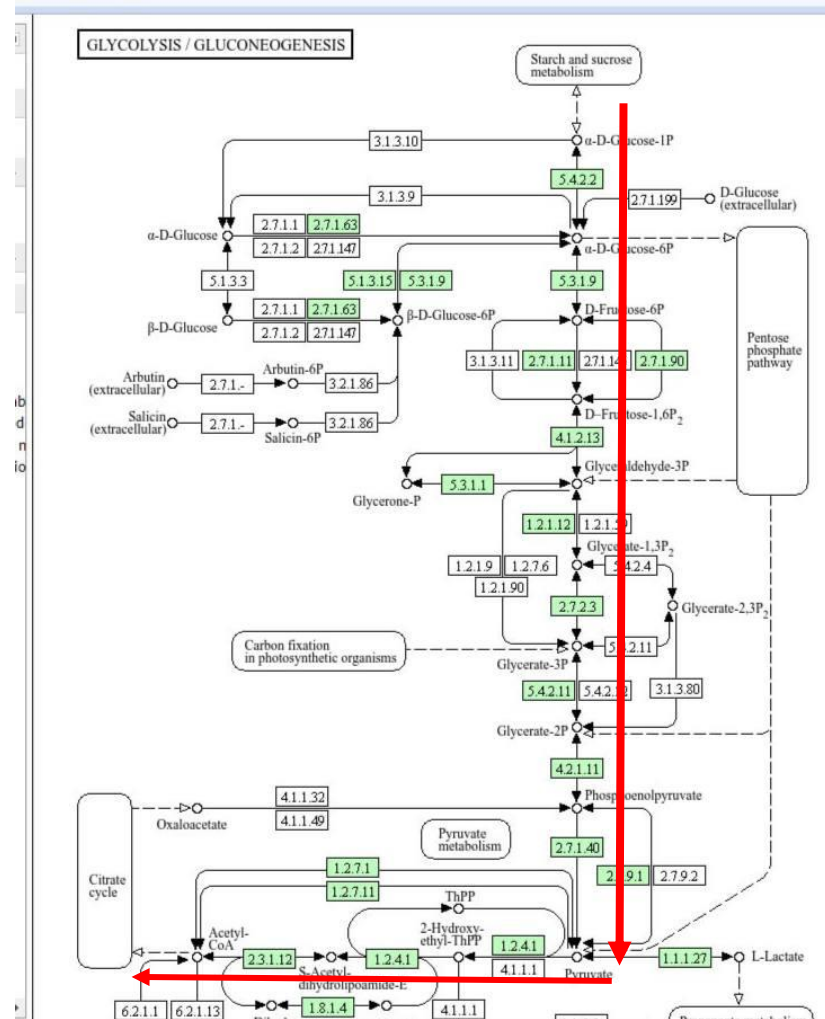
66. Кот С. П., Кириченко В. А. Санітарна мікробіологія: методичні рекомендації до практичних занять та самостійної роботи студентів спеціальностей 7.18010001 та 8.18010001 «Якість, стандартизація та сертифікація». — Миколаїв: МНАУ, 2015. — 59 с.

67. 91 . PROPIONIBACTERIUM AGAR [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://bacmedia.dsmz.de/medium/91>

68. Чебан Л.М. Загальна біотехнологія: навчально-методичний посібник. Модуль 1. – Чернівці: Чернівецький нац.ун-т, 2017. – 116 с.

# ДОДАТКИ

## Додатки до розділу 4



**KEGG Citrate cycle (TCA cycle) - *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* CIRM-BIA1**

[ Pathway menu | Organism menu | Pathway entry | Show description | Download | Help ]

Change pathway type

**Option**

Scale:  100%

**Search**

**ID search**

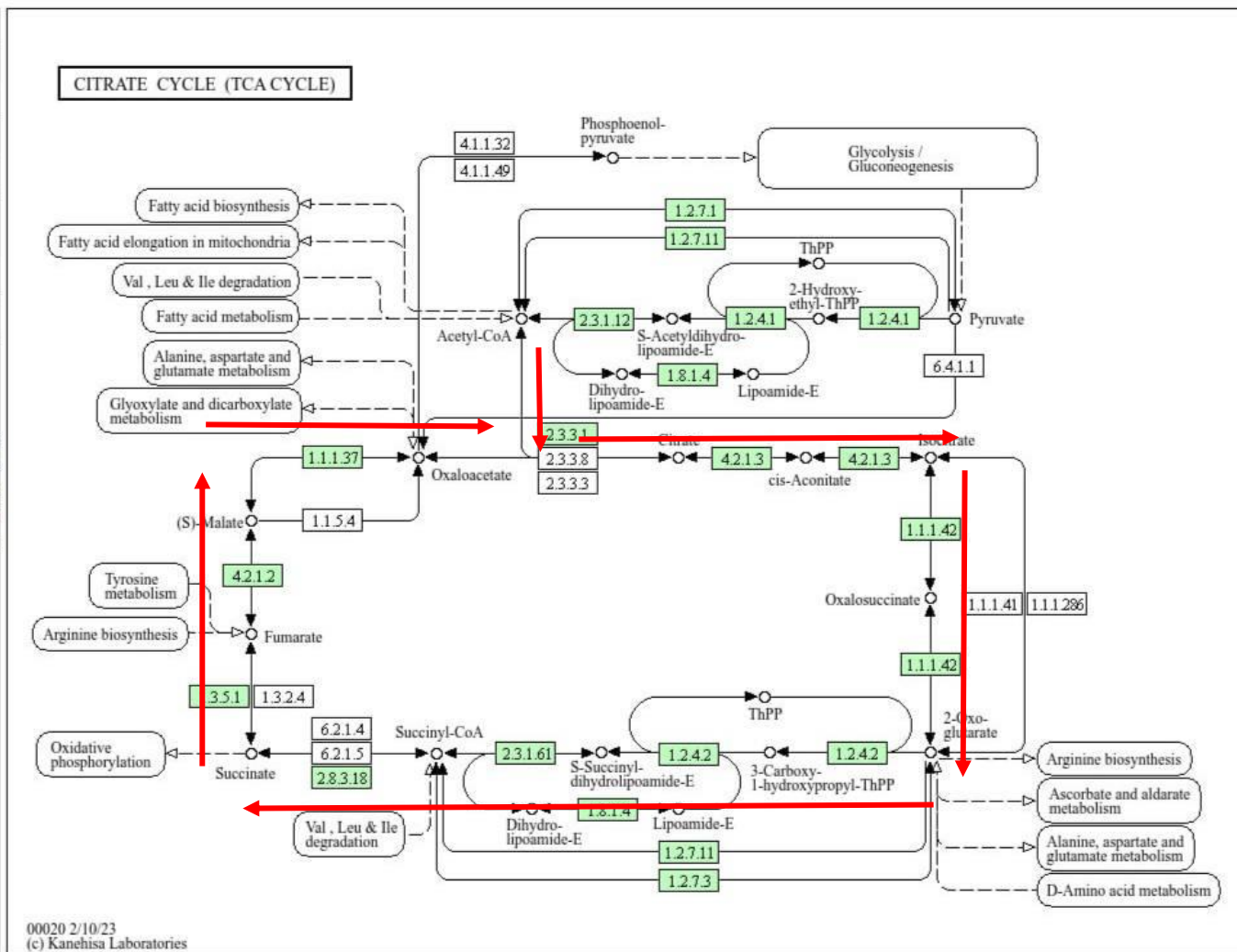
**Color**

**Module**

Complete only

**Pathway modules**

- Carbohydrate metabolism
- Central carbohydrate metab
- M00307 Pyruvate oxidatio
- M00009 Citrate cycle (TCA
- M00010 Citrate cycle, first
- M00011 Citrate cycle, sec









ium freudenreichii subsp. shermanii CIRM-BIA1

[ Help ]

