

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

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

**«До захисту в ЕК»**

Директор інституту(декан факультету)

\_\_\_\_\_ Наталія ГРЕГІРЧАК \_\_\_\_\_  
(підпис) (прізвище та ініціали)

«\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_р.

**«До захисту допущено»**

Завідувач кафедри

\_\_\_\_\_ Віктор СТАБНІКОВ \_\_\_\_\_  
(підпис) (прізвище та ініціали)

«\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_р.

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА**  
**НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ БАКАЛАВРА**

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

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

на тему: «Культивування *Lactococcus lactis* як компонента заквашу вальної композиції»

Виконав: здобувач 4 курсу, групи 2

\_\_\_\_\_ Ляшенко Віктор Олегович \_\_\_\_\_  
(прізвище, ім'я, по батькові повністю) (підпис)

Керівник \_\_\_\_\_ Грегірчак Наталія Миколаївна \_\_\_\_\_  
(прізвище, ім'я та по батькові повністю) (підпис)

Консультанти \_\_\_\_\_  
(прізвище та ініціали) (підпис)

\_\_\_\_\_ (підпис)

\_\_\_\_\_ (підпис)

Рецензент \_\_\_\_\_  
(прізвище та ініціали) (підпис)

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

Здобувач \_\_\_\_\_  
(підпис)

Київ - 2022р.

# НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) Біотехнології та екологічного контролю

Кафедра біотехнології і мікробіології

Освітній ступінь бакалавр

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

(код і назва)

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

(назва)

## ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології і  
мікробіології

Віктор СТАБНІКОВ

“ 04 ” квітня 20 22 року

## З А В Д А Н Н Я НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

ЛЯШЕНКО Віктор Олегович

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи «Культивування *Lactococcus lactis* як компонента заквашувальної композиції»

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

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

затверджені наказом закладу вищої освіти від 30 березня 2022 року № 164-кв

2. Строк подання здобувачем роботи 03.06.2022

3. Вихідні дані до роботи біологічний агент: *Lactococcus lactis*

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити)  
РОЗДІЛ 1. Характеристика цільового продукту. РОЗДІЛ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента. РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування. РОЗДІЛ 4. Біосинтез цільового продукту. РОЗДІЛ 5. Обґрунтування вибору технологічної схеми. РОЗДІЛ 6. Специфікація обладнання. РОЗДІЛ 7. Опис технологічної схеми біосинтезу. РОЗДІЛ 8. Контроль виробництва.

5. Перелік графічного матеріалу

Технологічна схема виробництва – 1 аркуш формату А1. Апаратурна схема виробництва – 1 аркуш формату А1.

## 6. Консультанти розділів роботи

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

7. Дата видачі завдання 04 квітня 2022 року

### КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

| №  | Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи              | Строк виконання етапів роботи | Примітка |
|----|--|-------------------------------|----------|
| 1  | Характеристика цільового продукту                          | 04.04.2022 – 08.04.2022       |          |
| 2  | Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента | 09.04.2022 – 13.04.2022       |          |
| 3  | Техніко-економічне обґрунтування                           | 14.04.2022 – 20.04.2022       |          |
| 4  | Біосинтез цільового продукту                               | 21.04.2022 – 26.04.2022       |          |
| 5  | Обґрунтування вибору технологічної схеми                   | 27.04.2022 – 03.05.2022       |          |
| 6  | Специфікація обладнання                                    | 04.05.2022 – 13.05.2022       |          |
| 7  | Опис технологічної схеми біосинтезу                        | 14.05.2022 – 19.05.2022       |          |
| 8  | Контроль виробництва                                       | 20.05.2022 – 25.05.2022       |          |
| 9  | Оформлення пояснювальної записки                           | 26.05.2022 – 01.06.2022       |          |
| 10 | Виконання графічної частини проекту                        | 26.05.2022 – 01.06.2022       |          |
|    |  |                               |          |
|    |  |                               |          |
|    |  |                               |          |
|    |  |                               |          |
|    |  |                               |          |
|    |  |                               |          |

Здобувач \_\_\_\_\_  
(підпис)

Керівник роботи \_\_\_\_\_  
(підпис)

Віктор ЛЯШЕНКО  
(ім'я та прізвище)

Наталія ГРЕГІРЧАК  
(ім'я та прізвище)

## РЕФЕРАТ

Курсова робота присвячена розробленню технологічної та апаратурної схеми біосинтезу біомаси з використанням вітчизняного штаму бактерій *Lactococcus lactis* ВКПБ'8558, який синтезує 7,5 г/л біомаси на середовищі з молочною сироваткою та гідролізованим молоком.

За розрахунками потужність виробництва буде становити 3,3 т біомаси на рік. Технологічний процес біосинтезу буде включати такі допоміжні роботи: приготування 6%-го розчину хлоридної кислоти для підкислення середовища перед стерилізацією; стерилізація поживних середовищ. А також, дві стадії вирощування посівного матеріалу та біосинтез у ферментері об'ємом 2 м<sup>3</sup> з коефіцієнтом заповнення 0,7).

Технологія отримання біомаси проводиться глибинним періодичним способом. Курсова робота складається з вступу, п'яти розділів, списку використаних джерел та технологічної схеми. Загальний обсяг роботи – 28 сторінок, 6 таблиць.

**Ключові слова:** біомаса, *Lactococcus lactis subspecies lactis* ВКПБ'8558, біосинтез, періодичне культивування.

## ЗМІСТ

|   |    |
|---|----|
| ВСТУП.....  | 5  |
| РОЗДІЛ 1. Характеристика цільового продукту.....  | 7  |
| РОЗДІЛ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента.....   | 9  |
| 2.1 Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування .....   | 9  |
| 2.2 Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки біологічного агента.....  | 15 |
| 2.3 Таксономічний статус біологічного агента .....  | 16 |
| РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування .....  | 17 |
| 3.1 Потреба в цільовому продукті .....  | 17 |
| 3.2. Розрахунок потужності виробництва закваски для виготовлення кисломолочного сиру.....   | 19 |
| 3.3. Розрахунок об'єму ферментера та кількості виробничих циклів.....   | 20 |
| 3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу для біосинтезу біомаси <i>Lactococcus lactis subspecies lactis</i> LLN-E2.....        | 22 |
| РОЗДІЛ 4. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ.....   | 24 |
| 4.1 Обґрунтування доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу.....  | 24 |
| 4.1.1. Обґрунтування способу культивування та типу ферментера.....  | 24 |
| 4.1.2 Обґрунтування стадій підготовки стерильного аераційного повітря для одержання біомаси <i>Lactococcus lactis subspecies lactis</i> LLN-E2.....   | 25 |
| 4.1.3 Вибір мийних та дезінфікуючих засобів.....  | 26 |
| 4.1.4 Обґрунтування способу підготовки та стерилізації поживного середовища для культивування <i>Lactococcus lactis subspecies lactis</i> LLN-E2..... | 28 |
| РОЗДІЛ 5. Специфікація обладнання .....   | 32 |
| РОЗДІЛ 6 Опис технологічної схеми.....  | 34 |
| РОЗДІЛ 7 КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА.....  | 39 |
| 7.1 Мікробіологічний контроль.....  | 39 |

|       |   |    |
|-------|---|----|
| 7.2   | Методика визначення кількості живих лактококів.....         | 40 |
| 7.3   | Визначення концентрації біомаси.....                        | 40 |
| 7.4   | Визначення концентрації джерела карбону та нітрогену.....   | 41 |
| 7.4.1 | Визначення кількості лактози йодометричним методом.....     | 41 |
| 7.4.2 | Визначення концентрації амінного азоту мідним способом..... | 43 |
| 7.5.  | Карта постадійного контролю.....                            | 44 |
|       | СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ .....                        | 47 |

## ВСТУП

На сьогодні виробництво ферментованих молочних продуктів обов'язково супроводжується використанням заквашувальних культур. На їх ефективність впливає багато факторів, як наприклад якість молока чи відповідність самої заквашувальної культури таким основним вимогам як непатогенність, нетоксигенність. Різноманітність заквашувальних культур дозволяє створити продукти з необхідною консистенцією та органолептичними показниками.

Молочнокислі бактерії, які найчастіше входять до складу заквасок, за рахунок продукування антибіотикоподібних факторів, низки органічних кислот, а також конкуренції за ділянки слизової оболонки кишечника з представниками патогенної і умовно-патогенної флори сприяють нормалізації якісного і кількісного складу мікробіоценозу шлунково-кишкового тракту. Однією з груп мікроорганізмів, які широко використовуються у складі сучасних заквасок є бактерії виду *Lactococcus lactis*, штами яких бактерій *Lactococcus lactis* широко використовуються як основні компоненти заквасок мезофільного типу, для таких продуктів як: сметана, масло кисловершкове, твердих та м'яких сирів, в тому числі сиру кисломолочного. [1] Також відмінними рисами *Lactococcus lactis* є здатність синтезувати екзополісахариди, що володіють фізико-хімічними, функціонально-технологічними та біологічними властивостями. Вони впливають на реологічні характеристики продуктів, зменшують кількість виділеної сироватки та збільшують термін придатності. Використання штамів *Lactococcus lactis*, в якості закваски підвищує стійкість заквашувальних культур до бактеріофагів завдяки здатності продукувати екзополісахариди [2]

В умовах сьогодення на продовольчому ринку України представлена маленька кількість вітчизняних компаній, що виробляють закваски. Тому виробники кисломолочної продукції вимушені закуповувати їх в іноземних компаній, що значно підвищує ціни на таку продукцію. Отже проектування рентабельного виробництва високопродуктивної вітчизняної закваски на основі штаму *Lactococcus lactis subspecies lactis* LLN-E2, який синтезує 7,5 г/л біомаси на середовищі з молочною сироваткою та гідролізованим молоком, є актуальним оскільки може задовільнити

частину українського ринку в заквасках для виробництва ферментованих молочних продуктів.

## РОЗДІЛ 1 Характеристика цільового продукту

У виробництві кисло-молочних продуктів основним необхідним елементом є заквашувальні культури. Саме вони відіграють важливу роль у формуванні якості кисломолочних продуктів. Однією з найсучасніших та найзручніших у використанні є закваски прямого внесення (DVS)

Закваски прямого внесення (DVS) - концентровані культури молочно-кислих бактерій, що виготовляються у вигляді порошку або в замороженому стані. Дані закваски вносяться безпосередньо в резервуар, це дозволяє зменшити можливість інфікування бактеріофагами. [3]

Основні переваги:

1. Прискорення технологічного процесу завдяки виключенню таких етапів як: виготовлення виробничих та лабораторних заквасок;
2. Зниження можливості інфікування бактеріофагами;
3. Відсутність затрат на додаткове обладнання;

Часто при виробництві заквасок прямого внесення (DVS) використовуються молочно-кислі бактерії мезофільного типу такі як *Lactococcus lactis*. Основним продуктом культивування *Lactococcus lactis* є біомаса, її отримують з сухою залишковою вологою  $W=2-6\%$ , отже сухої речовини в продукті буде  $CP=0,97$ . Кількість живих клітин –  $8,4 * 10^8$ . Межа кислотоутворення на стерильному знежиреному молоці складає –  $94 \pm 5,0^\circ T$ . Умови зберігання: зберігати в герметичній упаковці 24 місяці при  $-18^\circ C$ , 12 місяців при  $+4^\circ C$

**Органолептичні показники:** Суха біомаса – це сипуча, порошкоподібна речовина білого кольору, що володіє характерним запахом.

|                  |                       |                    |               |             |  |                    |             |               |
|------------------|-----------------------|--------------------|---------------|-------------|--|--------------------|-------------|---------------|
|                  |                       |                    |               |             | <i>НУХТ БТЕК 04.01.02 КР ПЗ</i>              |                    |             |               |
| <i>Зм</i>        | <i>Арк.</i>           | <i>№ документа</i> | <i>Підпис</i> | <i>Дата</i> | <b>Характеристика<br/>цільового продукту</b> | <i>Літера</i>      | <i>Аркш</i> | <i>Аркшів</i> |
| <i>Розробник</i> | <i>Ляшенко В.О.</i>   |                    |               |             |  |                    | 6           | 96            |
| <i>Керівник</i>  | <i>Грегіушак Н.М.</i> |                    |               |             |  |                    |             |               |
| <i>Н. контр</i>  |                       |                    |               |             |  |                    |             |               |
| <i>Консильт</i>  |                       |                    |               |             |  |                    |             |               |
| <i>Зав. каф.</i> | <i>Стадніков В.П.</i> |                    |               |             |  | <i>Кафедра БТМ</i> |             |               |

### **Сфери застосування:**

- Закваски застосовуються для виробництва кисломолочних пробіотичних продуктів на молочних комбінатах, а саме: кефіру; йогурту; ряжанки; сметани; сиру; наріне тощо.
- Медичне використання заквашувальної композиції для виготовлення пробіотиків.
- Заквашувальні композиції використовуються в сільськогосподарській сфері для: кращого зберігання сирого протеїну, зменшення втрати сухої речовини, покращення перетруєння кормів, кращого зберігання вітамінів групи А та С, покращує біосинтез вітамінів групи В.

## РОЗДІЛ 2 Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента

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

Цільовим продуктом є біомаса, одержана культивуванням факультативно анаеробних бактерій *Lactococcus lactis*, зокрема різними штамми даного продуцента. Тож для обрання найбільш ефективного штаму порівняймо за властивостями три продуктивні штами з адаптованими промисловими поживними середовищами [4,5,6].

Для порівняльної характеристики та вибору продуцента розглянемо наступні продуценти: *Lactococcus lactis subspecies lactis* LLN-E2, *Lactococcus lactis* B-1662, *Lactococcus lactis* LCL.

|                  |             |                       |               |             |   |  |  |                    |             |               |
|------------------|-------------|-----------------------|---------------|-------------|---|--|--|--------------------|-------------|---------------|
|                  |             |                       |               |             | <i>НУХТ БТЕК 04.01.02 КР ПЗ</i>   |  |  |                    |             |               |
| <i>Зм</i>        | <i>Арк.</i> | <i>№ документа</i>    | <i>Підпис</i> | <i>Дата</i> | <b>Обґрунтування вибору<br/>та характеристика<br/>біологічного агента</b> |  |  |                    |             |               |
| <i>Розробник</i> |             | <i>Ляшенко В.О.</i>   |               |             |   |  |  | <i>Літера</i>      | <i>Аркш</i> | <i>Аркшів</i> |
| <i>Керівник</i>  |             | <i>Грегірчак Н.М.</i> |               |             |   |  |  |                    | 6           | 96            |
| <i>Н. контр</i>  |             |                       |               |             |   |  |  | <i>Кафедра БТМ</i> |             |               |
| <i>Консульт</i>  |             |                       |               |             |   |  |  |                    |             |               |
| <i>Зав. каф.</i> |             | <i>Стадніков В.П.</i> |               |             | 11  |  |  |                    |             |               |

**Порівняльна характеристика біологічних агентів для біосинтезу біомаси**

*Таблиця 2.1*

| Продуцент  | Склад поживного середовища (г/л)  | Умови культивування: температура °С, рН, час культивування(год )  | Концентрація біомаси КУО/мл | Концентрація біомаси г/л | Література  |
|--|---|---|-----------------------------|--------------------------|---|
| <i>Lactococcus lactis subspecies lactis</i> LLN-E2 , | Гідролізоване молоко– 270мл<br>Молочна сироватка - 90<br>КН <sub>2</sub> РО <sub>4</sub> - 1,8<br>Na <sub>2</sub> НРО <sub>4</sub> - 2,2<br>Лимонокислий натрій – 5<br>MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O – 0,08 | Ферментацію проводять у ферментері при t=27 °С, постійно підтримуємо рН – 6,5, до накопичення кількості живих клітин - 8,4 ÷9,5 lg КОЕ/см <sup>3</sup> , час культивування – 11,5 год | 8,4*10 <sup>9</sup>         | 7,5                      | Пат. 2 295 563(13) С1. Штам бактерий <i>Lactococcus lactis subspecies lactis</i> LLN-E2, використовуваний в виробництві молочних продуктів і спосіб отримання стерильної культури <i>Lactococcus lactis subspecies lactis</i> LLN-E2 //Ганина В.И.,Рожкова Т.В. 2006. |

|   |  |   |                            |            |   |
|---|--|---|----------------------------|------------|---|
| <p><i>Lactococcus lactis</i> B-1662</p> | <p>Лактоза– 20<br/> Дріжджовий автолізат– 5<br/> Пептон казеїновий – 20<br/> «Tween 80» – 1<br/> K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> - 2<br/> MgSO<sub>4</sub>*7H<sub>2</sub>O – 0,1<br/> MnSO<sub>4</sub>*4H<sub>2</sub>O – 0,05<br/> Цитрат амонія – 2<br/> Ацетат натрію - 5</p> | <p>Культивування проводять при t =27°C<br/> pH – 5,5<br/> Час культивування – 12 год, на шутель-апараті</p> | <p>1,86*10<sup>9</sup></p> | <p>7</p>   | <p>.MonicaCostalsMalvido, ElisaAlonsoGonsalessi// Совместное влияние градиента pH и подачи глюкозы на кинетику роста <i>Lactococcuslactis</i> СЕСТ 539 в ограниченных по глюкозе культурах периодического действия //PolishJornalofmicrobiology.-2018-.Vol 68 - . N 2 P .269-280</p>  |
| <p><i>Lactococcus lactis</i> LCL</p>    | <p>Сік фініків -70<br/> Дріжджовий екстракт- 2,5<br/> KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 4<br/> Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>- 4,5<br/> М'ясний екстракт- 5<br/> MgSO<sub>4</sub>*7H<sub>2</sub>O – 0,35<br/> Аскорбінова кислота – 0,5</p>                                      | <p>Ферментацію проводять у ферментрі при t=30 °C<br/> pH – 5,0<br/> Час культивування - 24 год</p>          | <p>0.6*10<sup>9</sup></p>  | <p>6,2</p> | <p>Fatma Zohra Ras El Gherab, Omar Hassaine, Halima Zadi-Karam &amp; Nour-Eddine Karam // Statistical Optimization for the Development of a Culture Medium Based on the Juice of Waste-Dates for Growth of <i>Lactococcus lactis</i> LCL Strain by Using the Plackett–Burman and Response Surface Methodology .Waste and Biomass Valorization 2018.- Vol 6 - . N 1 P2943–2957</p> |

Данні, що наведені у таб.2.1 свідчать про те, що штам *Lactococcus lactis subspecies lactis* LLN-E2 утворює найбільшу концентрацію біомаси (7,5 г/л) у порівнянні з іншими *Lactococcus lactis* В-1662 та *Lactococcus lactis* LCL, що утворюють 7 та 6,2 г/л відповідно. При цьому тривалість культивування штаму *Lactococcus lactis subspecies lactis* LLN-E2 є найменшою (11,5 год) у порівнянні з іншими штамми, для яких тривалість вирощування становить 24 та 20 год.

Для більш обґрунтованого виробу продуцента наводимо порівняльну характеристику вартості поживного середовища ( табл. 2.2, ), яке використовується для одержання біомаси молочно кислих бактерій.

## Порівняння вартості поживних середовищ штамів-продуцентів

Таблиця 2.2

| Продуцент   | Склад поживного середовища та концентрація компонента (г/л) | Ціна компонентів (грн/кг) | Вартість компонентів (грн) | Загальна вартість поживного середовища за 1 л | Джерело інформації (1, 2, 3)* |
|---|---|---------------------------|----------------------------|---|-------------------------------|
| <i>Lactococcus lactis</i><br><i>subspecies lactis</i><br>LLN-E2 , | Гідролізоване молоко<br>– 270 : на 1л                       | 16,75                     | 4,5                        | 7,6   | 2                             |
|   | Молочна сироватка –<br>90                                   | 25                        | 2,25                       |   | 2                             |
|   | KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> - 1,8                       | 67                        | 0,12                       |   | 1                             |
|   | Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> - 2,2                      | 153                       | 0,33                       |   | 1                             |
|   | MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O - 0,08                | 60                        | 0,005                      |   | 2                             |
|   | Лимонокислий натрій<br>- 5                                  | 85                        | 0,425                      |   | 2                             |
| <i>Lactococcus lactis</i><br>B-1662                               |   | 49                        | 0,98                       | 63,45   | 2                             |
|   | Лактоза– 20   | 300                       | 1,5                        |   | 2                             |
|   | Дріжджовий автолізат– 5                                     | 3000                      | 60                         |   | 1                             |
|   | Пептон казеїновий –<br>20                                   | 200                       | 0,2                        |   | 2                             |
|   | «Tween 80» – 1  | 92                        | 0,2                        |   | 1                             |
|   | K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> - 2                         | 60                        | 0,006                      |   | 2                             |
|   | MgSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O – 0,1                  | 60                        | 0,003                      |   | 2                             |
|   | MnSO <sub>4</sub> *4H <sub>2</sub> O – 0,05                 | 120                       | 0,24                       |   | 2                             |
|   | Цитрат амонія – 2   | 65                        | 0,32                       |   | 2                             |
|   | Ацетат натрію - 5   |                           |                            |   |                               |

|   |   |     |        |    |   |
|---|---|-----|--------|----|---|
| <i>Lactococcus lactis</i><br><i>LCL</i> | Сік фініків -70                             | 220 | 15,4   | 28 | 2 |
|   | Дріжджовий екстракт-<br>2,5                 | 156 | 0,39   |    | 2 |
|   | КН <sub>2</sub> РО <sub>4</sub> – 4         | 67  | 1,34   |    | 1 |
|   | Na <sub>2</sub> НРО <sub>4</sub> - 4,5      | 153 | 6,8    |    | 1 |
|   | М'ясний екстракт- 5                         | 810 | 4,05   |    | 1 |
|   | MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O - 0.2 | 60  | 0,012  |    | 2 |
|   | Аскорбінова кислота<br>– 0,5                |     |        |    |   |
|   |   | 31  | 0,0155 |    | 2 |

Примітка. \* – Ціни наведено станом на березень 2021 р. 1- <https://shop.hlr.ua> ;

2 <https://prom.ua/ua/brands/Prym> ;

Згідно з інформацією наведеною у табл. 2.2 можна сказати, що вартість поживних середовищ мікроорганізмів *Lactococcus lactis subspecies lactis* ВКПБ'8558 та *Lactococcus lactis LCL* - 7,6 грн та 28 грн відповідно, але найвища для штаму *Lactococcus lactis* В-1662 - 63,45. На останньому етапі вибору біологічного агента ми розрахуємо умовну вартість 1г цільового продукту (табл. 2.3).

Таблиця 2.3

#### Умовна вартість одиниці цільового продукту

| Біологічний агент                                   | Вартість 1л середовища грн | Максимальн. концентрація біомаси г/л | Умовна вартість біомаси грн/грозраховуючи на л середовища | Тривалість культивування, год | Питома продуктивність, г/год |
|---|----------------------------|--------------------------------------|---|-------------------------------|------------------------------|
| <i>Lactococcus lactis subspecies lactis</i> LLN-E2, | 7,6                        | 7,5                                  | 1,0   | 11,5                          | 0,65                         |
| <i>Lactococcus lactis</i> В-1662                    | 63,45                      | 7                                    | 9   | 12                            | 0,58                         |
| <i>Lactococcus lactis LCL</i>                       | 28                         | 6,2                                  | 4,5   | 30                            | 0,21                         |

*Lactococcus lactis* LCL має найбільш складне та дороге поживне середовище, яке містить окрім ростових факторів на прикладі дріжджового екстракту та м'ясного екстракту, ще і фініковий сік у якості субстрату. Концентрація біомаси у даного штаму є досить малою, так само як і ефективність штаму по часу за рахунок низької швидкості росту. Тому для промислового культивування даний штам не підходить.

*Lactococcus lactis* B-1662 має досить непогані показники по росту та синтезу біомаси, зокрема даний штам на досить простому поживному середовищі дає 7 г/л біомаси за 12 год. Що виводить даний штам одним з перспективних продуцентів біомаси, однак у порівнянні з наступним кандидатом ростові показники даного штаму є досить низькими.

*Lactococcus lactis subspecies lactis* LLN-E2 має найвищі ростові показники по синтезу біомаси. Даний штам за 11,5 год інтенсивного культивування набирає 7,5 г/л біомаси, що дає можливість визнати даний штам найбільш ефективним незважаючи на складність поживного середовища, яка обумовлена наявністю таких компонентів як гідролізат молока та сироватка, що є досить важкими для зберігання компонентами, оскільки вони швидко псуються. Однак ціна поживного середовища та собівартість біомаси у 1,0 грн за 1 г роблять даний штам у сумі з високою ефективністю ідеальним кандидатом для використання у промисловому виробництві біомаси для заквасок. Тому обираємо штам *Lactococcus lactis subspecies lactis* LLN-E2.

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

Представники виду *Lactococcus lactis* є нерухомими, грампозитивними неспоротворними, гомоферментативними молочнокислими бактеріями, що відносять до сімейства *Streptococcaceae*. У навколишньому середовищі

зустрічаються на рослинних субстратах, у шлунково-кишковому тракті тварин, а також у молочних продуктах.

Клітини цих мікроорганізмів овальні, розміром  $(0,5-1,2) \times (0,5-1,5)$  мкм, розташовані поодинокі, парами або в ланцюжках, за Грамом забарвлюються позитивно [7].

*Lactococcus lactis* - факультативний анаероб, що росте не тільки в анаеробних умовах, а й в аеробних. Не росте на простих живильних середовищах, тому до них додають різні екстракти, наприклад дріжджовий. Також основними компонентами поживних середовищ для культивування *Lactococcus lactis* є знежирене чи гідролізоване молоко. На щільних живильних середовищах мікроорганізм утворює округлі розсипчасті колонії. Оптимальна температура росту становить 30-35°C.

### **2.3. Таксономічний статус біологічного агента**

*Lactococcus lactis subspecies lactis* LLN-E2 відноситься до роду *Lactococcus*. Рід *Lactococcus* включений в сімейство *Streptococcaceae*, яке віднесено до порядку *Lactobacillales* в клас *Bacilli* в відділ *Firmicutes* в домен *Bacteria*.

## РОЗДІЛ 3 Техніко-економічне обґрунтування

### 3.1 Потреба в цільовому продукті

На сьогодні в агропромисловому комплексі України виробництво молочної продукції займає провідне місце. Наразі ринок молочних продуктів є одним з найбільш перспективних та найменш реалізованих складових частин ринку агропромислового комплексу. Молочна продукція займає важливе місце у раціоні всіх споживачів, частка витрат на молочні продукти становить 15% від загальних витрат на харчування кожного Українця [8].

Можна спостерігати, що за останні роки зменшилась кількість виробництва молока у господарств, але судячи із статистичних даних в Україні стало вироблятися більше молока в особистих селянських господарствах (рис. 1.1). Такі дані неможливо перевірити, а отже їх не можна вважати дійсно точними [9].

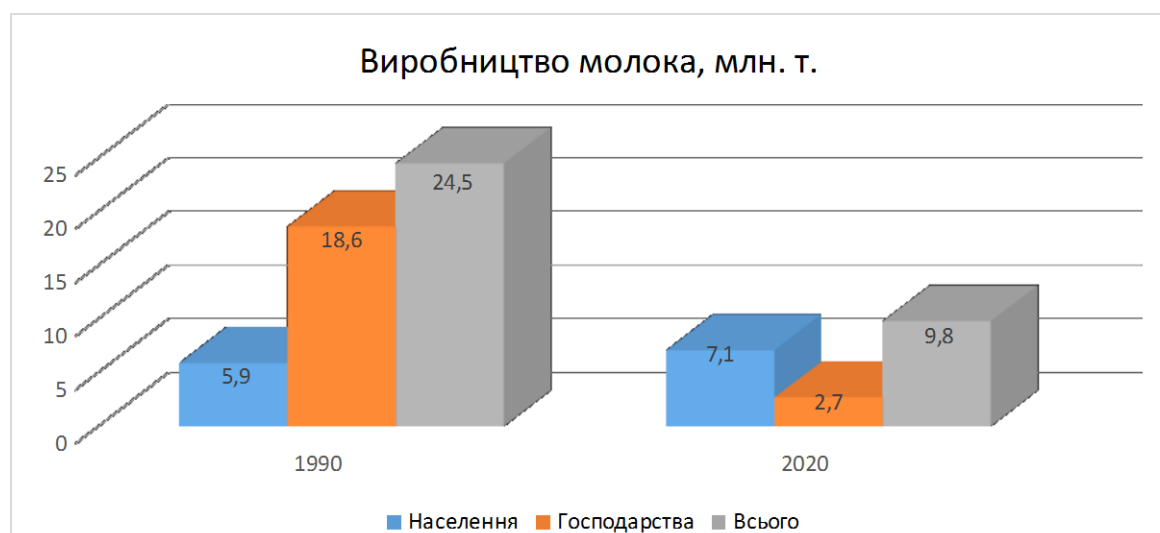


Рис. 1.1 Показники виробництва молока у господарствах України

|   |             |                       |               |               |
|---|-------------|-----------------------|---------------|---------------|
| <i>НУХТ БТЕК 04.01.02 КР ПЗ</i>         |             |                       |               |               |
| <i>Зм</i>                               | <i>Арк.</i> | <i>№ документа</i>    | <i>Підпис</i> | <i>Дата</i>   |
| <i>Розробник</i>                        |             | <i>Ляшенко В.О.</i>   |               |               |
| <i>Керівник</i>                         |             | <i>Грегірчак Н.М.</i> |               |               |
| <i>Н. контр</i>                         |             |                       |               |               |
| <i>Консильт</i>                         |             |                       |               |               |
| <i>Зав. каф.</i>                        |             | <i>Стадніков В.П.</i> |               |               |
| <b>Техніко-економічне обґрунтування</b> |             |                       | <i>Літера</i> | <i>Аркш</i>   |
|   |             |                       |               | <i>Аркшів</i> |
|   |             |                       | 6             | 96 19         |
| <i>Кафедра БТМ</i>                      |             |                       |               |               |

Важливою складовою молочно переробної промисловості є ферментовані продукти, які являють собою суміш сироватки та коагульованого білку, що містить велику кількість живих клітин молочнокислих бактерій та їх ферментів. На ринку України представлений дуже широкий асортимент – від кефірів та йогуртів до кисломолочних сирів. Ці продукти мають високу засвоюваність, та містять в своєму складі велику кількість поживних речовин необхідних людині. Незважаючи на користь та простоту виготовлення більшості продуктів можемо спостерігати значний спад виробництва в останні роки (табл.1.1) [10].

**Показники виробництва молочної продукції в Україні** Таблиця 1.1

|   | <b>1990</b> | <b>2003</b> | <b>2020</b> |
|---|-------------|-------------|-------------|
| Кількість молокопереробних підприємств, од. | 643         | 441         | 192         |
| Виробництво молока, млн. т                  | 24,5        | 13,67       | 9,8         |
| Перероблено молока, млн. т                  | 18          | 4,5         | 3,8         |
| Продукція з незбираного молока, тис. т      | 6430        | 1230        | 1010        |
| Вершкове масло, тис. т                      | 441,1       | 145,3       | 89,2        |
| Сир, різні види тис. т                      | 183,8       | 167,8       | 128,6       |
| Сухе молоко, тис. т                         | 61,1        | 19,8        | 34,1        |
| Згущене молоко, тис. т                      | 166         | 101,4       | 74,5        |
| Споживання молока на душу населення         | 373         | 220         | 221         |

Основні показники молочної галузі в Україні станом на 01.01.2020 [<https://agropolit.com/blog/412-molochna-galuz-ukrayini-ta-yiyi-maybutnye-cherez-10-rokiv-problemi-natsionalna-programa-rozvitku-ta-derjavna-pidtrimka>]

Для виготовлення ферментованих молочних продуктів та забезпечення потрібного технологічного процесу, його безпеки та стабільності використовуються промислові заквашувальні культури. Залежно від типу продуктів, їх органолептичних та фізико-хімічних властивостей використовуються закваски з різним складом мікробіоти. Так, закваски для сиру кисломолочного, сметани,

вершкового масла виготовляються на основі мезофільних лактококів. До того ж під час вибору штамів для заквашувальної композиції також треба зважати на властивості цих штамів та тип продукту, для якого їх використовують [11].

Перспективним у технології виробництва кисломолочних та ферментованих продуктів є використання штамів молочнокислих бактерій, які здатні синтезувати екзополісахариди, що в свою чергу позитивно впливає на реологічні показники продукту. Одним з таких штамів є *Lactococcus lactis subspecies lactis* LLN-E2, який відноситься до мезофільного типу мікроорганізмів, та вперше був виділений з збагаченої культури на основі самоквасного сиру.

Саме на основі мезофільних лактококів найчастіше створюють заквашувальні композиції для сиру кисломолочного, продукту створеного на основі молока з використанням закваски мезофільних молочнокислих бактерій. Його включають у раціон повсякденного, дієтичного та лікувального харчування будь - яких вікових груп населення. [12]

За рекомендаціями Київського науково-дослідного інституту гігієни харчування, споживання молочних продуктів (в перерахунку на молоко) повинно становити 390 кг в рік, на душу населення, з них 9 кг сиру кисломолочного [13]. За даними державної статистики України за період з січня по липень 2019 сиру кисломолочного та виробів з нього для дитячого харчування було виготовлено 4160 т [14]. Зважаючи на те, що товар не має сезонності частота купівлі буде приблизно однакова весь рік. Отже, за рік буде виготовлятися приблизно 7128 т.

При виробництві кисломолочного сиру кислотним способом кінцевий продукт буде становити 18%, сироватка – 82%, сухої закваски 1,6 г на 100 л молока, що використовується для його виробництва [15]. Виходячи з цього для виробництва 1 кг сиру кисломолочного знадобиться 0,1 г закваски та 5,555 л молока. Для виробництва 7128 т сиру знадобиться 39600 т  $\approx$  384446602 л молока та 6,2 т закваски.

### 3.2. Розрахунок потужності виробництва закваски для виготовлення кисломолочного сиру.

Як на міжнародному ринку, так і на вітчизняному основними конкурентами, що виготовляють закваски для молокопереробної промисловості є компанії Chr. Hansen [16] та Danisco A/S [17]. Основним Українським виробником заквасок для ферментованих молочних продуктів є Державне дослідне підприємство інституту продовольчих ресурсів, що було засновано в 1965 р. [18]. На сьогодні підприємство є багатопрофільною структурою, що виробляє широкий асортимент бактеріальних заквасок і концентратів, заквасочних культур прямого внесення як для промислового використання, так і для індивідуального споживача в країні.

Отже, загальна кількість закваски для виготовлення сиру кисломолочного за рік становить 6,2 т. Зважаючи на те, що співвідношення бактерій виду *Lactococcus lactis* в заквасках для виготовлення сиру кисломолочного становить 1:1:1 то, на *Lactococcus lactis subspecies lactis* LLN-E2 буде припадати 2,1 т. Запроектоване нами виробництво буде задовольняти 12 % ринку, що дорівнює 252 кг закваски. Для виготовлення такої кількості компоненту закваски знадобиться 33600 л культуральної рідини. За попередніх розрахунків був вибраний біологічний агент *Lactococcus lactis subspecies lactis* LLN-E2, продуктивність якого становить  $P_{кр} = 7,5$  г/л = 7,5 кг/м<sup>3</sup> культуральної рідини. Плануємо, що обрану кількість біомаси будемо виробляти  $T_{рд} = 265$  робочих трудоднів, тривалість виробничого циклу  $T_{ф} = 11,5$  год. Враховуючи лідируючі позиції вказаних вище компаній, реалізація складатиме не більше 12 %, визначаємо потребу у біомасі *Lactococcus lactis subspecies lactis* LLN-E2.

$$G_{нт} = 2,1 \times 12\% = 252 \text{ кг.}$$

### 3.3. Розрахунок об'єму ферментера та кількості виробничих циклів

Потреба у біомасі *Lactococcus lactis* складає  $G_{нт} = 252$  кг. Таку кількість біомаси потрібно виробити за  $T_{рд} = 265$  днів. Обраний продуцент *Lactococcus lactis subspecies lactis* LLN-E2 здатний до максимального виходу біомаси за таких умов (

$T_{\phi}=11,5$  год,  $t=24$  °C, pH – 6,5) [4]. Відповідно до ГОСТ 34372-2017 вміст сухих речовин в готовому продукті  $CP_{гп}=0,97$ .

Для проведення подальших розрахунків визначимо цикл роботи ферментеру  $T_{цф} = T_{\phi} + T_{по} = 11,5 + 10 = 21,5$  год. Коефіцієнт запасу  $K_1 = 1,3$ ; Сумарні втрати при виділенні готового продукту  $E_{св}=0,2$ .

Кількість продукту на добу ( $V_{нтд}$ ) становитиме:

$$G_{нтд} = G_{нт} / T_{рд} = 252 / 265 = 0,95 \text{ кг/добу.}$$

Кількість біомаси за цикл:

$$G_{цк} = G_{нтд} \cdot T_{цф} / 24 = 0,95 \cdot 21,5 / 24 = 0,85 \text{ кг/цикл.}$$

Отриманий за одну ферментацію об'єм культуральної рідини, враховуючи можливі витрати при виділенні готового продукту:

$$V_{кр} = K_1 \cdot G_{цк} \cdot CP_{гп} / P_{кр} (1 - E_{св}) = 1,3 \cdot 0,85 \cdot 0,97 / 7,5 (1 - 0,2) = 0,11 \text{ м}^3$$

Кількість ферментацій (циклів) за рік:

$$N_{цк} = G_{нт} / G_{цк} = 252 / 0,85 = 296 \text{ циклів.}$$

### **Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу**

Визначаємо кількість поживного середовища та посівного матеріалу в ферментері:

$$V_{\phi} = V_{кр} / (1 - E_{\phi}) = 0,11 / (1 - 0,1) = 0,12 \text{ м}^3.$$

Кількість поживного середовища в ферментері:

$$V_{пс} = V_{\phi} / (1 + X_{\phi}) = 0,12 / (1 + 0,05) = 0,114 \text{ м}^3.$$

Кількість посівного матеріалу для засіву ферментера:

$$V_{пмф} = V_{\phi} - V_{пс} = 0,12 - 0,114 = 0,006 \text{ м}^3.$$

Враховуючи, що обраний коефіцієнт заповнення ферментера  $K_3 = 0,8$ , приблизний геометричний об'єм ферментера буде становити:

$$V_{гф} = V_{\phi} / K_3 = 0,12 / 0,8 = 0,15 \text{ м}^3.$$

За таблицею, поданою в методичних рекомендаціях геометричний об'єм ферментер буде дорівнювати  $0,16 \text{ м}^3$ .

### 3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу для біосинтезу біомаси *Lactococcus lactis subspecies lactis* LLN-E2

При біосинтезі культуральної рідини за один цикл отримують  $V_{кр}=0,11 \text{ м}^3$   
Перед біосинтезом кількість поживного середовища та посівного матеріалу становитиме:

$$V_{роб.1} = V_{кр}/(1-E_{\phi}) = 0,11 / (1 - 0,1) = 0,12 \text{ м}^3.$$

Біосинтез буде здійснюватися в ферментері з робочим об'ємом  $V_{роб.1} = 0,12 \text{ м}^3$ .  
Враховуючи коефіцієнт заповнення  $K_3=0,8$ , можливий геометричний об'єм ферментера становить:

$$V_{\phi} = V_{роб.1} / K_{зап} = 0,12 / 0,8 = 0,15 \text{ м}^3$$

Обираємо найближчий за об'ємом стандартний ферментер  $V_{сф} = 0,16 \text{ м}^3$ , та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{зап1} = V_{роб.1} / V_{\phi} = 0,12 / 0,15 = 0,8$$

Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у вибраних межах, отже геометричний об'єм ферментера обрано вірно. Кількість посівного матеріалу (доза) для ферментера становить 5% від об'єму поживного середовища. Тоді кількість поживного середовища в ферментері буде становити:

$$V_{пс1} = V_{роб.1}/(1+X_{\phi}) = 0,12 / (1+0,05) = 0,114 \text{ м}^3$$

де  $X_{\phi}=0,05$  – доза посівного матеріалу для ферментеру.

Кількість посівного матеріалу становить:

$$V_{пм1} = V_{роб.1} - V_{пс1} = 0,12 - 0,114 = 0,006 \text{ м}^3.$$

Для одержання  $0,006 \text{ м}^3$  інокуляту в посівному апараті враховуємо втрати в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованої суміші газів які становлять 10 – 15%. Тоді кількість поживного середовища та посівного матеріалу в посівному апараті становитиме:

$$V_{роб.2} = V_{пм1}/(1-E_{па}) = 0,006/(1-0,1) = 0,0066 \text{ м}^3.$$

Кількість посівного матеріалу становить 5 % від об'єму поживного середовища, тоді кількість поживного середовища в посівному апараті буде становити:

$$V_{пс2} = V_{роб.2}/(1+X_{па}) = 0,0066/(1+0,05) = 0,0062 \text{ м}^3,$$

де  $X_{па}=0,05$  – доза інокуляту для посівного апарату.

Кількість посівного матеріалу для посівного апарату становить:

$$V_{пм2} = V_{роб.2} - V_{пс2} = 0,0066 - 0,0062 = 0,0004 \text{ м}^3 \text{ або } 0,4 \text{ л.}$$

Кількість інокуляту  $V_{роб.2} = 0,0066 \text{ м}^3$  можна одержати під час культивування бактерій у посівному апараті геометричним об'ємом:

$$V_{па2} = V_{роб.2} / K_{зап} = 0,0066 / 0,8 = 0,00825 \text{ м}^3.$$

Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний посівний апарат  $V_{сф} = 0,01 \text{ м}^3$ , уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення.

$$K_{з1} = V_{роб.2} / V_{сф} = 0,0066 / 0,01 = 0,66$$

Оскільки даний коефіцієнт заповнення не лежить в межах  $0,7 - 0,8$ , замовляємо у виробника потрібний геометричний об'єм посівного апарату -  $0,009 \text{ м}^3$ . Тоді коефіцієнт заповнення  $K_{з1} = V_{роб.2} / V_{сф} = 0,0066 / 0,009 = 0,73$ .

Кількість посівного матеріалу для засіву посівного апарату  $V_{пм2} = 0,4 \text{ л}$  можна одержати культивуванням бактерій у колбі в термостаті. Для цього використовують колбу  $V_{колб} = 750 \text{ мл}$  та коефіцієнтом заповнення  $K_{зк} = 0,8$ .

При цьому кількість колб для отримання посівного матеріалу буде становити:

$$N_{колб} = V_{пм2} / (V_{колб} \times K_{зк}) = 400 / (750 \times 0,8) = 1$$

Отже, для одержання посівного матеріалу необхідна 1 колба.

Загальна схема приготування посівного матеріалу *Lactococcus lactis subspecies lactis* LLN-E2 наведена на рис. 1.2

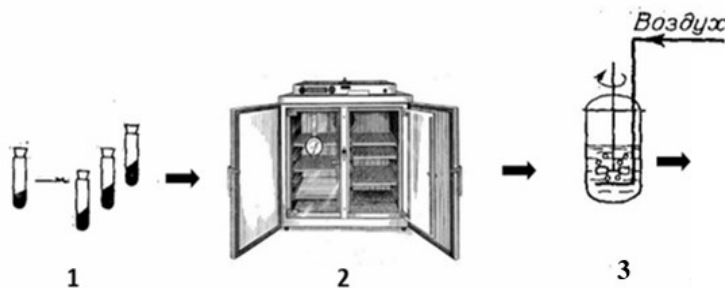


Рис.1.2 Схема приготування посівного матеріалу *Lactococcus lactis subspecies lactis* LLN-E2

Тож, процес нарощування посівного матеріалу для забезпечення виробничого біосинтезу біомаси *Lactococcus lactis subspecies lactis* LLN-E2 у ферментері об'ємом 0,16 м<sup>3</sup>, з коефіцієнтом заповнення 0,8 буде проходити у 2 стадії.

## РОЗДІЛ 4 ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

### 4.1 Обґрунтування доферментаційних процесів та виробничого біосинтезу

#### 4.1.1. Обґрунтування способу культивування та типу ферментера

Оптимальною температурою для культивування штаму *Lactococcus lactis subspecies lactis* LLN-E2 є 27 °С, а оптимальним значенням рН = 6,5. Також присутня можливість контамінації сторонніми мікроорганізмами. Через це необхідні асептичні умови під час біосинтезу, чого неможливо досягти при поверхневому культивуванні. Для забезпечення асептичних умови проводиться стерилізація обладнання і комунікацій, поживного середовища. Отже, культивування *Lactococcus lactis subspecies lactis* LLN-E2 для накопичення біомаси здійснюють глибинним способом.

Для невеликих об'ємів культур безперервний процес буде дуже затратним та нерентабельним, особливо коли продуцент не є надсинтетиком, до того ж періодичний спосіб культивування є більш мобільним та економічно менш затратним і більш безпечним в плані стерильності.

Тож для культивування продуцента *Lactococcus lactis subspecies lactis* LLN-E2 обираємо періодичний спосіб культивування.

Залежно від умов культивування біологічного агента конструкція і оснащення ферментера буде відрізнятися. Після визначення способу культивування та фізіолого-біохімічних особливостей продуцента, треба обрати необхідне оснащення для ферментера, яке б забезпечило створення даних умов:

1. Для культивування *Lactococcus lactis subspecies lactis* LLN-E2 ферментер повинен бути оснащений барботером для подачі кисню.

2. Для інтенсифікації масообмінних процесів та кращої гомогенізації культуральної рідини в ферментері необхідно встановити перемішувальний пристрій з частотою обертів 200 об/хв.

|           |                |  |  |   |             |       |         |
|-----------|----------------|--|--|---|-------------|-------|---------|
| Розробник | Ляшенко В.О.   |  |  | <b>ОБҐРУНТУВАННЯ<br/>ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ<br/>СХЕМИ</b> | Літера      | Аркиш | Аркишів |
| Керівник  | Грегірчак Н.М. |  |  |   |             | 6     | 96      |
| Н. конто  |                |  |  |   | Кафедра БТМ |       |         |
| Консильт  |                |  |  |   |             |       |         |
| Зав. каф. | Стадніков В.П. |  |  |   |             |       |         |

3. Для забезпечення сталої температури культивування ферментер оснащується сорочкою і датчиком температури.
4. Для контролю рівня рН культуральної рідини ферментер оснащується датчиком рН.

Серед ферментерів місткістю 160 л відомий промисловий апарат фірми «BIORUS». Апарат виконаний у вигляді вертикальної циліндричної місткості з еліптичним дном і кришкою, всередині відсутні «мертві зони». Також апарат оснащений спеціальним пробовідбірником, пристрієм для стерильного засіву, завантажувальним клапаном та трубопроводом для перекачування. Внутрішня поверхня апарата полірована. Мішалки з високою швидкістю обертання мають регульовану швидкість і напряму з'єднуються з електродвигуном. [19]



*Рис. 3.1.* Ферментер «BIORUS» для глибинного культивування

#### **4.1.2 Обґрунтування стадій підготовки стерильного аераційного повітря для одержання біомаси *Lactococcus lactis subspecies lactis* LLN-E2**

Для синтезу біомаси необхідний низький рівень аерації, адже за анаеробних умов мезофільні лактококи здійснюють молочнокисле бродіння та утворюють велику кількість молочної кислоти. За аеробних умов здійснюють переважно синтез екзополісахаридів та відбувається нарощування біомаси. Тому здійснення біотехнологічного процесу є важлива стадія підготовки стерильного аераційного повітря.

В лабораторіях, де працюють з посівною культурою, для забезпечення чистоти використовуються УФ-лампи. Повітря для вирощування інокуляту та виробничого біосинтезу стерилізують за допомогою індивідуальних фільтрів та фільтрів грубої очистки. На головному повітряному колекторі стиснутого аераційного повітря встановлюються фільтри грубої очистки, а індивідуальні фільтри встановлюються безпосередньо перед кожним ферментером.

#### **4.1.3 Вибір мийних та дезінфікуючих засобів**

Основними факторами при виборі мийного та дезінфікуючого засобів є: ціна та витрати на оброблювання площі виробничого приміщення.

«Санімакс» – це дезінфікуючий засіб, що має бактерицидну, фунгіцидну та спороцидну дію. Однією з переваг є можливість використання як з гарячою так і з холодною водою, також не містить летких та екологічно небезпечних компонентів. Отже, засіб буде використовуватись для дезінфекції підлоги 1 раз на 7 днів (загалом – 34 рази) і 8 разів для дезінфекції вікон, стін та дверей.

Об'єми та витрати концентратів дезінфікуючих та мийних засобів наведено в таблиці 4.1.

Виходячи з даних наведених у табл. 4.1, можна зробити наступні висновки:

- для миття обладнання та інвентарю буде використовуватись мийний засіб «Біолонг»;
- для дезінфекції та миття стін, підлоги, вікон, дверей будуть використовуватись засоби «Септомакс»; та «ПЗ-Гіпохлорам»;

Мийно-дезинфікувальні засоби варто застосовувати з періодичністю в 3 місяці для запобігання розвитку резистентних форм мікроорганізмів.

Миття ферментера (160 л), інокулятора (9 л), реакторів-змішувачів для двох стадій культивування (загалом 389 л) відбуватиметься за допомогою СІР-мийки. Кількість мийного засобу буде становити половину об'ємів всього обладнання. Загалом для 1 циклу потрібно використати 194,5 л робочого розчину мийного засобу, а для всього періоду виробництва – 4668 л.

## Узагальнена характеристика витрат мийних та дезінфікувальних засобів для виробництва поверхневого антигену HBsAg

| Назва миючого/<br>дезінфікуючого<br>засобу | Об'єкт<br>миття та/або<br>дезінфекції      | Концентрація<br>робочого<br>розчину, % | Загальна<br>площа (об'єм)<br>миття та/або<br>дезінфекції<br>об'єкту за весь<br>період<br>виробництва,<br>м <sup>2</sup> (л) | Кількість<br>робочого<br>розчину за<br>весь період<br>виробництва, л | Вартість 1 л/кг<br>мийного або<br>дезінфікувально<br>-го засобу, грн | Загальна вартість<br>миття та/або<br>дезінфекції за весь<br>період виробництва,<br>грн |
|--|--|--|---|--|--|--|
| Кальцинована сода <sup>1</sup>             | Обладнання, інвентар,<br>комунікації       | 2,0                                    | 12000   | 6000   | 58   | 6960   |
| Каустична сода <sup>1</sup>                | Обладнання, інвентар,<br>комунікації       | 2,0                                    | 12000   | 6000   | 120  | 14000  |
| Біолонг <sup>1</sup>                       | Обладнання, інвентар,<br>комунікації, тара | 1                                      | 12000   | 6000   | 96   | 5760   |
| Санімакс <sup>2</sup>                      | Стіни, підлога, вікна,<br>двері, інвентар  | 0,5                                    | 2100  | 210  | 240  | 252  |
| Септомакс <sup>3</sup>                     | Стіни, підлога, вікна,<br>двері, інвентар  | 0,5                                    | 2100  | 210  | 250  | 262,5  |
| ПЗ-гіпохлорам <sup>3</sup>                 | Стіни, підлога, вікна,<br>двері, інвентар  | 0,5                                    | 2100  | 210  | 235  | 246,7  |

Миття та дезинфікацію підлоги необхідно проводити кожного дня (всього 265 разів), стіни, двері, вікна – 1 раз на місяць (10 разів).

#### **4.1.4 Обґрунтування способу підготовки та стерилізації поживного середовища для культивування *Lactococcus lactis subspecies lactis* LLN-E2**

Максимальний синтез біомаси (7,5 г/л за 11,5 год) досягається за умов росту штаму *Lactococcus lactis subspecies lactis* LLN-E2 на середовищі даного складу (г/л): Гідролізоване молоко – 270мл; Молочна сироватка – 90;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ - 1,8;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ - 2,2; Лимонокислий натрій – 5;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,08 [4].

Виходячи з розрахунків наведених у розділі 1 виробничий біосинтез здійснюється у ферментері об'ємом 0,16 м<sup>3</sup>, що містить 0,114 м<sup>3</sup> поживного середовища. Одержання інокуляту буде відбуватись у два етапи ( у колбах та посівному апараті).

#### **Освітлення молочної сироватки**

Для видалення з молочної сироватки білково-полісахаридного комплексу передбачена операція освітлення молочної сироватки. Для її проведення у молочну сироватку, при температурі 15-30 С вводять сухий пектин у кількості 0,25-2,0% від маси сироватки. Суміш перемішують та витримують протягом 30-35 хв при рН = 4,0-5,0. Потім поділяють отриману суміш на освітлену сироватку і білково-полісахаридний комплекс [20].

**Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для одержання посівного матеріалу для вирощування в колбах у термостаті**

На першому етапі для вирощування посівного матеріалу в колбах потрібно 0,4 л поживного середовища, тому для стерилізації компонентів обираємо автоклав з горизонтальним завантаженням LABOKLAV 80-MSLV, об'ємом 100 л [21]. Молочну сироватку та гідролізоване молоко стерилізуємо в одній колбі при температурі 112 С, 30 хв. Розчин солей  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , Лимонокислий натрій,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  стерилізуємо в окремій колбі при температурі 131 С, 40 хв.

| Компонент поживного середовища            | Вміст, г/л | Кількість для приготування 400 мл середовища, г | Композиції | Об'єм композиції, V, мл |
|---|------------|---|------------|-------------------------|
| Гідролізоване молоко                      | 270 мл     | 108 мл  | А          | 200                     |
| Молочна сироватка                         | 90 мл      | 36 мл   |            |                         |
| Вода                                      |            | 56  |            |                         |
| $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,                | 1,8        | 0,72  | Б          | 200                     |
| $\text{Na}_2\text{HPO}_4$                 | 2,2        | 0,88  |            |                         |
| Лимонокислий натрій                       | 5          | 2   |            |                         |
| $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 0,08       | 0,032   |            |                         |
| Вода                                      |            | 200   |            |                         |
| Всього                                    |            |   |            | 400                     |

**Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для одержання інокуляту в інокулторі об'ємом 9 л**

На даному етапі потрібно приготувати 6,2 л поживного середовища.

| Компонент поживного середовища | Вміст, г/л | Кількість для приготування 6,2 л середовища, г | Композиції | Об'єм композиції, V, л |
|--------------------------------|------------|--|------------|------------------------|
| Гідролізоване молоко           | 270 мл     | 1,7 л  | А          | 3,5                    |

|   |       |       |   |       |
|---|-------|-------|---|-------|
| Молочна сироватка                         | 90 мл | 0,6 л |   |       |
| Вода                                      |       | 1,2   |   |       |
| $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,                | 1,8   | 11,2  | Б | 2,7   |
| $\text{Na}_2\text{HPO}_4$                 | 2,2   | 13,64 |   |       |
| Лимонокислий натрій                       | 5     | 31    |   |       |
| $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 0,08  | 0,5   |   |       |
| Вода                                      |       | 2,7   |   |       |
| Всього                                    |       |       |   | 6,2 л |

Композиції А та Б будуть стерилізуватись в окремих реакторах-змішувачах. Для стерилізації солей разом необхідно приготувати розчин  $\text{HCl}$  6%, який вносять в середовище перед стерилізацією.

### Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для виробничого біосинтезу

На даному етапі потрібно приготувати 114 л поживного середовища.

| Компонент поживного середовища            | Вміст, г/л | Кількість для приготування 114 л середовища, г | Композиції | Об'єм композиції, V, л |
|---|------------|--|------------|------------------------|
| Гідролізоване молоко                      | 270 мл     | 30,78 л  | А          | 64                     |
| Молочна сироватка                         | 90 мл      | 10,26 л  |            |                        |
| Вода                                      |            | 22,96  |            |                        |
| $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,                | 1,8        | 205,2  | Б          | 50                     |
| $\text{Na}_2\text{HPO}_4$                 | 2,2        | 250,8  |            |                        |
| Лимонокислий натрій                       | 5          | 570  |            |                        |
| $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 0,08       | 9,12   |            |                        |
| Вода                                      |            | 50   |            |                        |
| Всього                                    |            |  |            | 114                    |

Композиція А буде стерилізуватись у збірнику, композиція Б буде стерилізуватись безпосередньо у ферментері об'ємом  $0,16 \text{ м}^3$ . Для стерилізації солей разом необхідно приготувати розчин  $\text{HCl}$  6%, який вносять в середовище

перед стерилізацією для уникнення утворення осаду. Для підтримання оптимального значення рН під час виробничого біосинтезу будемо використовувати 25% розчин NH<sub>4</sub>OH.

Окрім стадій підготовки поживного середовища технологічна схема буде містити таку додаткову стадію, як приготування 6% розчину HCl для підкислення поживного середовища при стерилізації в інокуляторі об'ємом 9 л та ферментері 0,16 м<sup>3</sup>;

### Обґрунтування вибору розчинів для регуляції рН

Беручи до уваги, що бактерії роду *Lactococcus lactis* виробляють молочну кислоту необхідна підготовка розчин для регуляції рівня рН, а саме 25% розчин NH<sub>4</sub>OH, та 6% розчин HCl для підкислення середовища.

### Розрахунок вмісту та особливості приготування титрувальних агентів

| Об'єм середовища, л | HCl (6%)  |                          | NH <sub>4</sub> OH (25%) |                |
|---------------------|-----------|--------------------------|--------------------------|----------------|
|                     | Об'єм, мл | Особливість приготування | Об'єм, мл                | Зберігання     |
| 0,4                 | -         | -                        | -                        | -              |
| 6,2                 | 12,4      | у колбі на 250 мл        | 186                      | збірник на 5 л |
| 114                 | 228       | у колбі на 250 мл        | 3420                     | збірник на 5 л |

## РОЗДІЛ 5 Специфікація обладнання

Таблиця 5.1

| Позиція          | Найменування                  | Кількість | Технічна характеристика  |
|------------------|-------------------------------|-----------|--|
| ПЗ-1             | Повітрозабірник               | 1         | Обладнаний металевою сіткою для видалення механічних забруднень<br><a href="https://agropromtrans.dp.ua/povitrozabirnyky-resyvery/">https://agropromtrans.dp.ua/povitrozabirnyky-resyvery/</a>   |
| Ф-2              | Фільтр грубої очистки повітря | 1         | Фільтр G4 з синтетичного волокна - поліестера, термостійкість до 80°C, вологостійкість до 100%<br><a href="https://newfilter.com.ua/ua/ventilacia/filtruy-uchiy-material-g4.html">https://newfilter.com.ua/ua/ventilacia/filtruy-uchiy-material-g4.html</a>  |
| К-3              | Компресор                     | 1         | Компресор для харчової промисловості, безмасляний WAN BS-6, 400 л/хв, потужність 3кВт<br><a href="https://flagma.ua/uk/bezmaslyany-professionalny-porshnevoy-o2290772.html">https://flagma.ua/uk/bezmaslyany-professionalny-porshnevoy-o2290772.html</a>   |
| Т-4              | Теплообмінник-охолоджувач     | 1         | Охолоджувач стисненого повітря ОМІ RA20 (Італія), продуктивність 120 м <sup>3</sup> /год<br><a href="https://autom.com.ua/ua/oholodzhuvach-stisnenogo-povitrya-1000-l-hv-ra-10-omi-italiya">https://autom.com.ua/ua/oholodzhuvach-stisnenogo-povitrya-1000-l-hv-ra-10-omi-italiya</a>  |
| Р-5              | Ресивер                       | 1         | Повітряний ресивер для стислого повітря, номінальний об'єм - 0,02 м <sup>3</sup> , робочий тиск - 10 бар, спосіб установки - вертикальний<br><a href="https://entech-ukraine.dp.ua/ua/p526694352-vozduhosbornik-resiver-dlya.html">https://entech-ukraine.dp.ua/ua/p526694352-vozduhosbornik-resiver-dlya.html</a>   |
| Т-7              | Теплообмінник-нагрівач        | 1         | Теплообмінник Alfa Laval СВН16-35Н, теплопродуктивність - 40 кВт, матеріал – нержавіюча сталь, витрата повітря 3,6м <sup>3</sup> /год, виробник - Швеція<br><a href="https://termopoint.com.ua/ua/p192407906-payannyj-plastinchatyj-teploobmennik.html">https://termopoint.com.ua/ua/p192407906-payannyj-plastinchatyj-teploobmennik.html</a>                                |
| ІФ-14<br>ІФ - 20 | Фільтр індивідуальний         | 2         | Фільтр F9, фільтруючий матеріал на основі целюлози, Е = 85-95 %. Виробник: «Alter Air», Україна<br><a href="https://shop.alterair.ua/ru/product/panelnyye-vozdushnyye-filtry-dlya-tonkoy-ochistki-vozdukha-%28f7-f9%29/#scrollDescription">https://shop.alterair.ua/ru/product/panelnyye-vozdushnyye-filtry-dlya-tonkoy-ochistki-vozdukha-%28f7-f9%29/#scrollDescription</a> |

|                  |                       |                    |               |             |                                    |                    |               |                 |
|------------------|-----------------------|--------------------|---------------|-------------|------------------------------------|--------------------|---------------|-----------------|
|                  |                       |                    |               |             | <i>НУХТ БТЕК 04.01.02 КР ПЗ</i>    |                    |               |                 |
| <i>Зм</i>        | <i>Арк.</i>           | <i>№ документа</i> | <i>Підпис</i> | <i>Дата</i> | <b>Специфікація<br/>обладнання</b> | <i>Літера</i>      | <i>Аркциш</i> | <i>Аркцишів</i> |
| <i>Розробник</i> | <i>Ляшенко В.О.</i>   |                    |               |             |                                    |                    | 6             | 96              |
| <i>Керівник</i>  | <i>Грегірчак Н.М.</i> |                    |               |             |                                    |                    |               | 35              |
| <i>Н. контр</i>  |                       |                    |               |             |                                    | <i>Кафедра БТМ</i> |               |                 |
| <i>Консильт</i>  |                       |                    |               |             |                                    |                    |               |                 |
| <i>Зав. каф.</i> | <i>Стадніков В.П.</i> |                    |               |             |                                    |                    |               |                 |

| Позиція                                  | Найменування                                 | Кількість | Технічна характеристика  |
|--|--|-----------|--|
| З-8                                      | Збірник для розчину NH <sub>4</sub> OH (25%) | 1         | Збірник об'ємом 5 л, матеріал – харчова нержавіюча сталь, виробник – «Тавріяпромсервіс», Україна.<br><a href="https://prom.ua/ua/p1335156445-emkosti-pischevye-nerzhaveyuschie.html?&amp;primelead=MC43MQ">https://prom.ua/ua/p1335156445-emkosti-pischevye-nerzhaveyuschie.html?&amp;primelead=MC43MQ</a>   |
| Н-9<br>Н -22                             | Насос перистальтичний                        | 2         | Насос перистальтичний серії «В», швидкість обертання 50 об/хв, продуктивність 6 л/год<br><a href="https://www.etatron.com.ua/pumps/peristaltic_pumps/b-per/">https://www.etatron.com.ua/pumps/peristaltic_pumps/b-per/</a><br>Перистальтичний шланговий насос ВНЗ-V, швидкість обертання 40 об/хв, продуктивність 100 л/год<br><a href="https://www.etatron.com.ua/pumps/peristaltic_pumps/bh3-v/">https://www.etatron.com.ua/pumps/peristaltic_pumps/bh3-v/</a> |
| ДЗ – 10<br>ДЗ – 12<br>ДЗ – 16<br>ДЗ - 18 | Об'ємно-ваговий дозатор                      | 4         | Ваговий дозатор «FlexMash», Україна, величина дози 15г – 30кг, розміри: 1450*760*690<br><a href="https://flexmash.com/vesovoj-dozator-flexwx10/">https://flexmash.com/vesovoj-dozator-flexwx10/</a>  |
| Р - 11                                   | Реактор-змішувач                             | 1         | Реактор «Стройторгсервіс», Україна, об'ємом 10 л, оснащений сорочкою для нагрівання та мішалкою<br><a href="https://stprom.com.ua/ua/p16779567-reaktor-farmatsevticheskij-himicheskij.html">https://stprom.com.ua/ua/p16779567-reaktor-farmatsevticheskij-himicheskij.html</a>   |
| Р - 13                                   | Реактор-змішувач для розчинення солей        | 1         | Реактор «UkrChemGroup», Україна, об'ємом 10 л, оснащений сорочкою та мішалкою, швидкість перемішування 0 - 600 об/хв<br><a href="https://prom.ua/ua/p1331234280-steklyannyj-himicheskij-reaktor.html">https://prom.ua/ua/p1331234280-steklyannyj-himicheskij-reaktor.html</a>  |
| Р -17                                    | Реактор-змішувач                             | 1         | Реактор «Стройторгсервіс», Україна, об'ємом 200 л, оснащений сорочкою для нагрівання та мішалкою<br><a href="https://stprom.com.ua/ua/p16779567-reaktor-farmatsevticheskij-himicheskij.html">https://stprom.com.ua/ua/p16779567-reaktor-farmatsevticheskij-himicheskij.html</a>  |
| Р -                                      | Реактор-змішувач                             | 1         | Реактор «MDushka», Україна, об'ємом 200 л, оснащений сорочкою для нагрівання та мішалкою, швидкість перемішування – 50 – 100 об/хв<br><a href="https://www.dushka-ua.com/reactor/">https://www.dushka-ua.com/reactor/</a>  |
| ФР-15                                    | Ферментер (інокулятор)                       | 1         | Ферментер фірми Biogus. Робочий об'єм 9 л, швидкість перемішування 50-270 об/хв<br><a href="https://bio-rus.ru/stati/kupit-fermenter.html">https://bio-rus.ru/stati/kupit-fermenter.html</a>   |

Завершення табл.5.1.

|                        |   |          |  |
|------------------------|---|----------|--|
| <p>ФІ-12<br/>ФІ-14</p> | <p>Фільтри індивідуальної<br/>очистки</p> | <p>2</p> | <p>Фільтри марки HEPA «EN 779»,<br/>фільтруючий матеріал – папір на основі<br/>скловолокна, клас очищення H14,<br/>ефективність 99,995%, площа фільтрації<br/>від 2,7 до 20 м<sup>2</sup>, пропускна здатність 270-<br/>2000 м<sup>3</sup><br/><a href="http://luftov.com.ua/hepa-filtr-ventilyatsionnyi/">http://luftov.com.ua/hepa-filtr-ventilyatsionnyi/</a></p> |
| <p>ФР-13</p>           | <p>Ферментер</p>                          | <p>1</p> | <p>Ферментер фірми Biogus 0,16 м<sup>3</sup>. Робочий<br/>об'єм 0,12 м<sup>3</sup>, оснащений - сорочкою,<br/>барботером, пробовідбірником,<br/>мішалкою (50-270 об/хв)<br/><a href="https://bio-rus.ru/stati/kupit-fermenter.html">https://bio-rus.ru/stati/kupit-fermenter.html</a></p>  |

## РОЗДІЛ 6 Опис технологічної схеми

Технологічна схема синтезу біомаси *Lactococcus lactis subspecies lactis* LLN-E2 передбачає проведення допоміжних робіт (підготовка повітря, титрувального агенту, підготовка та стерилізація поживних середовищ) та технологічний процес (підготовка посівного матеріалу і виробничий біосинтез). Технологічна схема наведена в графічній частині проекту.

### **ДР 1. Підготовка аераційного повітря.**

#### **ДР 1.1. Забір атмосферного повітря**

Через забірну шахту, що розташована на 5 м висотою від даху будинку, де концентрація мікроорганізмів є стабілізованою, атмосферне повітря буде забиратись турбокомпресором. Для видалення забруднень повітрязабірник ПЗ-1 обладнаний металевою сіткою.

#### **ДР 1.2. Очистка від грубих домішок**

Попередня очистка повітря буде здійснюватися на тканинному фільтрі грубої очистки Ф-2. Ефективність очистки від грубих домішок  $E = 90\%$ , затримуватимуться частинки  $\delta > 50$  мкм.

#### **ДР 1.3. Компресування повітря**

Для подолання гідравлічного тиску стовпа рідини в ферментері та інших опорів, забезпечення умов аерації та інших потреб виробництва, повітря буде стискатись у компресорі (К-3), здійснюватиметься нагрівання до  $120^\circ\text{C}$ , тиск буде становити 0,4 МПа, буде знищуватись значна кількість контамінуючої мікрофлори.

#### **ДР 1.4. Охолодження повітря та видалення вологи**

Для видалення надлишкової вологи стиснене повітря (від ДР 1.3) буде охолоджуватись в теплообміннику-осушувачі (Т-4) до температури  $20^\circ\text{C}$ . За допомогою ресивера (Рс-5) будуть усуватись пульсації руху повітря, які негативно впливають на роботу подальших фільтрів очищення повітря та видалена зайва вологи, рівень якої має становити 60-70%.

|                  |                       |                    |               |             |                                     |                    |             |               |
|------------------|-----------------------|--------------------|---------------|-------------|-------------------------------------|--------------------|-------------|---------------|
|                  |                       |                    |               |             | <i>НУХТ БТЕК 04.01.02 КР ПЗ</i>     |                    |             |               |
| <i>Зм</i>        | <i>Арк.</i>           | <i>№ документа</i> | <i>Підпис</i> | <i>Дата</i> | <b>Опис технологічної<br/>схеми</b> | <i>Літера</i>      | <i>Аркш</i> | <i>Аркшів</i> |
| <i>Розробник</i> | <i>Ляшенко В.О.</i>   |                    |               |             |                                     |                    | 6           | 96            |
| <i>Керівник</i>  | <i>Грегірчак Н.М.</i> |                    |               |             |                                     |                    |             | 38            |
| <i>Н. контр</i>  |                       |                    |               |             |                                     | <i>Кафедра БТМ</i> |             |               |
| <i>Консульт</i>  |                       |                    |               |             |                                     |                    |             |               |
| <i>Зав. каф.</i> | <i>Стадніков В.П.</i> |                    |               |             |                                     |                    |             |               |

### *ДР 1.5. Нагрівання повітря*

Нагрівання повітря буде відбуватись в теплообміннику-нагрівачі Т-6 до температури 30 °С, вологості 40 %.

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

Від ДР 1.5 нагріте повітря буде надходити в головний фільтр Ф-7, установлений біля ферментаційних відділень. Ступінь очищення повітря буде становити 95%.

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

Від ДР 1.6 повітря буде подаватись в індивідуальні фільтри кожного інокулятора та ферментера. Рівень кінцевої очистки повітря становитиме  $E = 99,995\%$  та  $KУО = 0$ .

## ***ДР 2. Підготовка титрувальних агентів.***

Для проведення сумісної стерилізації компонентів середовища додаємо 6%-й розчин HCl (2 мл кислоти на 1 л поживного середовища) для пониження рівня рН середовища до 4,5. Також необхідним є використання 25% розчину NH<sub>4</sub>OH.

### ***ДР 2.1. Приготування 6%-го розчину хлоридної кислоти.***

#### *ДР 2.1.1. Приготування 6%-го розчину HCl для інокулятора об'ємом 9 л*

На даному етапі потрібно приготувати 6% розчин HCl. Щоб приготувати розчин такої концентрації у колбу об'ємом 250 мл вносять 2,2 мл 36%-го розчину HCl, мірним циліндром відміряють 10,2 мл дистильованої води. Колбу закривають пробкою та перемішують.

#### *ДР 2.1.2. Приготування 6%-го розчину HCl для виробничого ферментера об'ємом 0,16 м<sup>3</sup>*

На даному етапі потрібно приготувати 228 мл 6%-го розчину HCl. Щоб приготувати розчин такої концентрації у колбі об'ємом 0,75 л вносять 40,8 мл 36%-го розчину HCl, мірним циліндром відміряють 187,2 мл дистильованої води. Колбу закривають пробкою та перемішують

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

***ДР 3.1. Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування інокулянту у колбах в термостаті.***

***ДР 3.1.1. Приготування та стерилізація композиції А***

Відміряємо у мірній колбі 108 мл концентрованого гідролізованого молока та 36 мл молочної сироватки рідкої. Наважки поміщаємо у колбу об'ємом 0,5 л, додаючи 56 мл дистильованої води перемішуємо, закриваємо ватно – марлевою пробкою та стерилізуємо в автоклаві при  $t = 112\text{ }^{\circ}\text{C}$  (30 хв)

***ДР 3.1.2. Приготування та стерилізація композиції Б***

Відміряємо на технічних вагах 0,72 г,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,88 г  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 2 г лимонікислого натрію, та 0,032 г  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . Наважки поміщаємо у колбу об'ємом 0,5 л, додаючи 200 мл дистильованої води перемішуємо, закриваємо ватно – марлевою пробкою і стерилізуємо в автоклаві при  $t = 131\text{ }^{\circ}\text{C}$  (40 хв).

***ДР 3.2. Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі.***

Для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі (ІН-15) об'ємом 9 л готуємо 6,2 л поживного середовища. Враховуємо, що об'єм посівного матеріалу становить 0,4 л (5% від загального об'єму середовища), загальна кількість води, що необхідно додати становить 3,9 л

***ДР 3.2.1. Приготування та стерилізація композиції А***

Через об'ємно–ваговий дозатор (ДЗ-10) вносимо у реактор-змішувач об'ємом 10 л (Р-11) 1,7 л гідролізованого молока та 0,6 л молочної сироватки рідкої, подаємо 1,2 л питної води, вмикаємо мішалку для кращого перемішування та стерилізуємо при  $t = 112\text{ }^{\circ}\text{C}$  (30 хв)

***ДР 3.2.2. Приготування та стерилізація композиції Б***

Через об'ємно–ваговий дозатор (ДЗ-12) відміряємо 11,2 г,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 13,64 г  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 31 г лимонікислого натрію, та 0,5 г  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . Наважки переносимо у реактор-змішувач об'ємом 10 л (Р-13), додаючи 2,7 л дистильованої води, додаємо 6% розчин  $\text{HCl}$  (від ДР 2.2.) до рН 4,5. Вмикаємо

мішалку для кращого перемішування, після розчинення компонентів стерилізуємо при  $t = 131\text{ }^{\circ}\text{C}$  (40 хв).

### ***ДР 3.3. Приготування та стерилізація поживного середовища для виробничого біосинтезу.***

Для вирощування посівного матеріалу в ферментері об'ємом  $0,16\text{ м}^3$  (Ф-21) готуємо 114 л поживного середовища. Враховуємо, що об'єм посівного матеріалу становить 6 л (5% від загального об'єму середовища), загальна кількість води, що необхідно додати становить 72,96 л

#### ***ДР 3.3.1. Приготування та стерилізація композиції А***

Через об'ємно – ваговий дозатор (ДЗ-16) вносимо у реактор-змішувач об'ємом 200 л (Р-17) 30,78 л гідролізованого молока та 10,26 л молочної сироватки рідкої. Через об'ємно-ваговий дозатор подаємо 22,96 л дистильованої води, вмикаємо мішалку для кращого перемішування та стерилізуємо при  $t = 112\text{ }^{\circ}\text{C}$  (30 хв)

#### ***ДР 3.3.2. Приготування та стерилізація композиції Б***

Через об'ємно – ваговий дозатор вносимо 205,2 г  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 250,8 г  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 570 г лимонічного натрію, та 9,12 г  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . Наважки переносимо у збірник об'ємом 200л (Р-19), додаємо 100 л дистильованої води та вмикаємо мішалку для кращого перемішування. Після розчинення солей подаємо розчин у ферментер об'ємом  $0,16\text{ м}^3$  (Ф-21), додаючи 72,96 л дистильованої води та 6% розчин  $\text{HCl}$  (від ДР 2.2.) до рН 4,5. Стерилізуємо безпосередньо в ферментері при  $t = 131\text{ }^{\circ}\text{C}$  (40 хв).

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

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

Колекційну культуру *Lactococcus lactis subspecies lactis* ВКПБ'8558 підтримують у стабільній формі у вигляді ліофільно висушеної культури, яка зберігається у флаконі в холодильнику при  $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

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

Колекційну культуру *Lactococcus lactis subspecies lactis* ВКПБ'8558 вводиться в середовище МРС для одержання ізольованих колоній. Культивування відбувається в термостаті при  $t = 24 \pm 1$  °C (11,5 год).

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

Отримані ізольовані колонії з чашки Петрі (від ТП 3.2) пересіваємо петлею в пробірки з середовищем МРС. Культивуємо в термостаті при  $t = 24 \pm 1$  °C (11,5 год)

#### ***ТП 4.4. Вирощування інокуляту у колбах в термостаті***

В асептичних умовах у колбу із простерилізованою композицією А (від ДР 3.1.1) зливаємо простерилізовані композиції Б, (від ДР 3.1.2.), перемішуємо і розливаємо 400 мл у колбу об'ємом 750 мл. У пробірку з робочою культурою *Lactococcus lactis subspecies lactis* ВКПБ'8558 (від ТП 3.1) вносимо 30 мл фізіологічного розчину, суспендуємо клітини, піпеткою відбираємо одержану бактеріальну суспензію і вносимо у колби з поживним середовищем. Для засіву однієї колби використовуємо бактеріальну суспензію, одержану з однієї пробірки. Культивуємо у термостаті при  $t = 24 \pm 1$  °C (11,5 год).

#### ***ТП 4.5. Вирощування посівного матеріалу в інокуляторі***

В інокулятор об'ємом 9 л вносимо композицію А об'ємом 3,5 (від ДР 3.2.1), композицію Б об'ємом 2,7 л (від ДР 3.2.2). Після встановлення заданого рН розчином  $\text{NH}_4\text{OH}$  (25%), в стерильних умовах вносимо посівний матеріал через засівну колбу (від ТП 4.4). Культивування здійснюємо при температурі 24°C упродовж 11,5 год. Відбираючи проби кожні 2 год здійснюємо мікробіологічний контроль і визначаємо.

### ***ТП 5. Виробничий біосинтез***

#### ***ТП 5.1 Виробничий біосинтез***

У ферментер об'ємом  $0,16 \text{ м}^3$  з стерильною композицією Б (від ДР 3.3.2) подаємо стерильну композицію А об'ємом 64 л (від ДР 3.3.1). Після встановлення рН до рівня 6,5, розчином  $\text{NH}_4\text{OH}$  (25%), через трубу

перетискування подаємо посівний матеріал (від *ТП 4.5*). Культивування здійснюємо при температурі 24°C упродовж 11,5 год. Відбираючи проби кожні 2 год здійснюємо мікробіологічний контроль і визначаємо концентрацію біомаси. Ферментацію проводимо до моменту припинення витрати  $\text{NH}_4\text{OH}$  на нейтралізацію молочної кислоти.

## РОЗДІЛ 7 КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА

### 7.1 Мікробіологічний контроль

При біосинтезі бактерій *Lactococcus lactis subspecies lactis* ВКПБ'8558 необхідно проводити мікробіологічний контроль на всіх етапах культивування, для запобігання контамінації. Кожні 2 год відбирають зразок культуральної рідини для проведення аналізу.

Мікробіологічний контроль проводимо висівом на агаризоване поживне середовище МРС, а також мікроскопіюванням за допомогою світлового мікроскопа. Приготування препарату здійснюється в асептичних умовах, для цього на чисте, попередньо знежирене, предметне скло наносять невелику краплину культуральної рідини за допомогою стерильної петлі. За допомогою бактеріальної петлі розподіляють по предметному склу краплю з мікроорганізми, діаметром близько 1 см, після чого висушують при кімнатній температурі, до повного випаровування вологи. На сухий препарат за допомогою скляної палички наносять 1–2 краплини імерсійного масла, після чого ватною, попередньо змоченою етиловим спиртом, знімають залишки масла з об'єктиву.

Для фарбування за Грамом на попередньо приготований мазок наносять розчин карболового генціанвіолету, витримують 1–2 хв. Після чого барвник зливають, а мазок обробляють розчином Люголя 1–2 хв. Залишок розчину прибрати, мазок занурити в розчин 96%-го спирту на 30 сек. Промити мазок водою. Нанести на препарат водний розчин фуксину і залишити на 1 хв. Промити препарат водою, промокнути фільтрувальним папером. Мікроскопіювання препарату здійснюють імерсійною системою.

|                  |             |                       |               |             |                                 |                    |             |               |
|------------------|-------------|-----------------------|---------------|-------------|---------------------------------|--------------------|-------------|---------------|
|                  |             |                       |               |             | <i>НУХТ БТЕК 04.01.02 КР ПЗ</i> |                    |             |               |
| <i>Зм</i>        | <i>Арк.</i> | <i>№ документа</i>    | <i>Підпис</i> | <i>Дата</i> | <b>Контроль виробництва</b>     | <i>Літера</i>      | <i>Аркш</i> | <i>Аркшів</i> |
| <i>Розробник</i> |             | <i>Ляшенко В.О.</i>   |               |             |                                 |                    |             |               |
| <i>Керівник</i>  |             | <i>Грегірчак Н.М.</i> |               |             |                                 |                    | 6           | 96            |
| <i>Н. контр</i>  |             |                       |               |             |                                 | 44                 |             |               |
| <i>Консульт</i>  |             |                       |               |             |                                 | <i>Кафедра БТМ</i> |             |               |
| <i>Зав. каф.</i> |             | <i>Стадніков В.П.</i> |               |             |                                 |                    |             |               |

Бактерії мають сферичну або овальну форму. Розташовуються по одинці або попарно, чи у вигляді коротких ланцюжків.

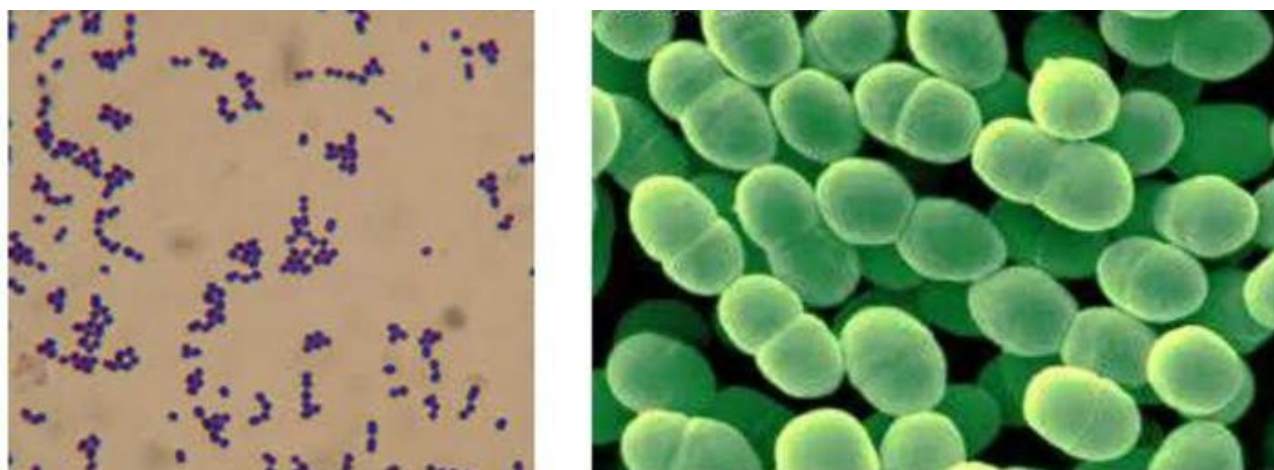


Рис. 5.1 *Lactococcus lactis*

## 7.2 Методика визначення кількості живих лактококів

Дослідження проводимо методом послідовних десятикратних розведень. Беремо 1 мл дослідного зразка розчиняємо в 9 мл стерильного фізіологічного розчину і ретельно перемішуємо до повного розчинення. З першого розведення у фізіологічного розчину готуємо ряд 10-кратних серійних розведень. З кожного отриманого розведення по 1 мл вносимо у дві пробірки рідкого середовища MRS, для отримання достатньої кількості колоній для проведення підрахунку. Пробірки інкубуємо в термостаті при  $(32 \pm 1) ^\circ\text{C}$ . Облік результатів здійснюється через 48 годин шляхом підрахунку кількості колоній у пробірках з найбільшим розведенням, у яких спостерігається ріст у пробірках, що передують найбільшому розведенню.

## 7.3 Визначення концентрації біомаси

Концентрацію біомаси та кінетику росту культури можемо визначити за оптичною густиною культуральної рідини. Для цього будемо використовувати автоматизовану систему для високопродуктивного вимірювання росту бактерій «C Pro Bioscreen Automated». Система являє собою фотометричний зчитувач оптичної густини. Він оснащений інкубатором, який забезпечує постійну температуру в усіх ланках при контрольованій температурі. Це важливо для

побудови якісних кривих росту. У нього є чутливий зчитувач, який вимірює каламутність, метод більш чутливий, ніж при використанні спектрофотометра. Зчитувач оснащений широкосмуговим фільтром і трьома іншими фільтрами для вимірювання певних довжин хвиль. Дані експортуються на ПК, на який встановлене програмне забезпечення «**BioScreener Pro**». Комп'ютер зв'язується з приладом для створення протоколів і аналізу результатів експерименту. [22]



Рис. 5.2 Автоматизована система «*C Pro Bioscreener Automated*»

## **7.4 Визначення концентрації джерела карбону та нітрогену.**

### **7.4.1 Визначення кількості лактози йодометричним методом.**

Основним субстратом у середовищі культивування є лактоза, тож вона і буде основним об'єктом для визначення концентарції джерела вуглецю. Метод визначення оснований на відновленні двовалентного купруму лактозою до одновалентного з подальшим відтитруванням залишку йодидом калія.

У центрифужну пробірку відміряють 25 мл культуральної рідини, центрифугують при 6000 обертах за хвилину упродовж 10 хв. Одержану систему розділяють, зливаючи надосадову рідину у окрему ємність – мірну колбу на 500 мл. Доводять до мітки дистильованою водою, перемешують та піддають аналізу зва наступною методикою:

До досліджуваного зразка додають дистильовану воду до половину об'єму, із бюреток відмірюють 10 см<sup>3</sup> розчину Фелінга I і 4 см<sup>3</sup> 1 н розчину КОН.

Розчин перемішують після додавання води і реактивів. Доводять вміст до мітки дистильованою водою, знову перемішують і залишають у спокої на 30 хв. Відстояну рідину фільтрують в суху колбу через складчастий паперовий фільтр. Перші порції фільтрату 10...20 см<sup>3</sup> видаляють. 50 см<sup>3</sup> фільтрату переносять піпеткою в конічну колбу місткістю 250...300 см<sup>3</sup> з притертою пробкою. Додають із бюретки 25 см<sup>3</sup> 0,1 н розчину йоду і повільно за постійного перемішування додають із бюретки 37,5 см<sup>3</sup> 0,1 н розчину гідроксиду натрію. Закривають колбу пробкою і залишають її в темному місці на 20 хв. за температури 20°C. Далі вносять циліндром 8 см<sup>3</sup> 0,5 н розчину соляної кислоти і титрують йод, що виділився 0,1 н розчином тіосульфату натрію. Індикатор – 1%-ний розчин крохмалю – вносять під кінець титрування, коли забарвлення в реакційній колбі набуде солом'яного кольору. Титрування продовжують до моменту зникнення синього забарвлення. Паралельно проводять контрольний дослід, відмірюють в колбу 50 см<sup>3</sup> дистильованої води (замість фільтрату), і проводять експеримент в тій же послідовності і з тими ж реактивами, що і в основному досліді.

Масову частку лактози L (%) розраховують за формулою:

$$L = \frac{0,01801 \cdot (V_1 - V) \cdot 100 \cdot 0,97}{m},$$

де 0,01801 – кількість лактози, що відповідає 1 см<sup>3</sup> 0,1 н розчину йоду, г; V<sub>1</sub> – кількість 0,1 н розчину Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, яку витратили на титрування йоду в контрольному досліді, см<sup>3</sup>; V – кількість 0,1 н розчину Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, яку витратили на титрування надлишку йоду у фільтраті, см<sup>3</sup>; 0,97 – поправка, встановлена емпірично; m – маса молока в 50 см<sup>3</sup> фільтрату, г.

Якщо на дослідження було взято точно 25 г молока, то масову частку лактози можна розрахувати спрощено за такою формулою:

$$L = 0,699 \cdot (V1 - V)$$

#### **7.4.2 Визначення концентрації амінного азоту мідним способом.**

Метод заснований на здатності амінокислот і різних пептидів утворювати комплексні розчинні сполуки з міддю, що визначається йодометричним методом. Суть методу в наступному: до певної кількості випробуваного розчину додається при слабоосновній реакції надлишок суспензії фосфорнокислої міді в боратному буферному розчині, в результаті чого після збовтування розчину утворюються мідні солі більшості амінокислот. Потім надлишок фосфату міді фільтрується, і в прозорому розчині після додавання  $\text{CH}_3\text{COOH}$  і  $\text{KI}$  визначається мідь об'ємним способом по виділяється йоду шляхом титрування слабким  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ .

#### **Умови проведення**

Для визначення амінного азоту беруть 5 мл середовища. Його поміщають в мірну колбу на 25 мл, додають 2 краплі тимолфталейну і 10 мл суміші, що складається з зваженого осаду фосфату міді в боратному розчині. Вміст колби доводять до мітки дистильованою водою, добре струшують і центрифугують або фільтрують через щільний фільтр. З центрифугату або фільтрату беруть по 5-10 мл в порцелянову чашку або колбу, підкислюють 0,25 - 0,5 мл 50% розчину  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , додають 0,2-0,4 г  $\text{KI}$  і титрують виділився йод 0,01 н. свіжоприготовленим розчином  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , доливаючи до кінця титрування 4-5 крапель крохмалю до зникнення типового синього забарвлення. Кількість мл 0,01 н. розчину  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  множать на 0,28, в результаті чого отримують 1 мг амінного азоту в узятій частині випробуваної рідини. Результати висловити у відсотках, враховуючи обсяг витяжки та вага навішування. При застосуванні даного способу особливу увагу звернути на те, щоб центрифугат або фільтрат

був прозорим, так як присутність найменшого осаду фосфорнокислої міді дає перебільшення цифри титрування.[23]

### 7.5. Карта постадійного контролю

| <i>Номер контрольної точки та назва стадії</i>                                | <i>Об'єкт контролю та показник, що визначається</i>                | <i>Засоби та методи контролю</i>    | <i>Періодичність перевірки та відбору проб</i>        | <i>Нормативні значення показника</i>  |
|---|--|-------------------------------------|---|---------------------------------------|
| <i>ДР 1.1</i><br>Забір атмосферного повітря<br>К <sub>т</sub>                 | повітрязабірник<br>висота<br>повітрязабірника                      | –                                   | під час купівлі та встановлення                       | H = 20 м                              |
| <i>ДР 1.2</i><br>Грубе очищення повітря<br>К <sub>т</sub>                     | повітря на виході з фільтра<br>грубої очистки<br>ступінь очистки   | згідно з паспортом фільтра          | після очистки повітря у фільтрі<br>грубого очищення   | E = 90 %<br>тиск згідно паспорту      |
| <i>ДР 1.3</i><br>Компресування повітря<br>К <sub>т</sub>                      | стиснене повітря<br>тиск,<br>температура                           | манометр<br>технічний,<br>термометр | після компресування повітря                           | P = 0,6 -1,0 МПа<br>t° = 140 – 210 °С |
| <i>ДР 1.4</i><br>Охолодження повітря та видалення вологи<br>К <sub>т</sub>    | охоложене повітря<br>температура,<br>вологість                     | термометр,<br>психрометр            | після охолодження повітря                             | t° = 25–40 °С<br>W = 65–75 %          |
| <i>ДР 1.5</i><br>Нагрівання повітря<br>К <sub>т</sub>                         | нагріте повітря<br>температура,<br>вологість                       | термометр,<br>психрометр            | після нагрівання повітря                              | t° = 40–50 °С<br>W = 60 %             |
| <i>ДР 1.6</i><br>Очищення повітря в головному фільтрі<br>К <sub>т</sub>       | повітря на виході з<br>головного фільтра<br>ступінь очищення       | згідно з паспортом фільтра          | після проходження через головний фільтр               | E = 95 %                              |
| <i>ДР 1.7</i><br>Очищення повітря в індивідуальному фільтрі<br>К <sub>т</sub> | повітря на виході з<br>індивідуального фільтра<br>ступінь очищення | згідно з паспортом фільтра          | після проходження через фільтр індивідуальної очистки | E = 99,999 %                          |
| <i>ДР 2.1.1, 2.1.2,</i><br>Приготування 6% розчину HCl для підкислення        | розчин хлоридної кислоти<br>концентрація                           | за густиною розчину                 | Одразу після приготування розчину                     | HCl 6 %                               |

|   |  |   |   |  |
|---|--|---|---|--|
| середовища<br>К <sub>Т</sub>  |  |   |   |  |
| ДР 3.1.1, 3.2.1<br>Приготування та стерилізація композиції А<br>К <sub>Т</sub> , К <sub>М</sub> | композиція А<br>температура,<br>час,<br>стерильність   | манометр<br>технічний,<br>годинник,<br>мікробіологічний<br>контроль                                     | Тиск, час –<br>безперервно під<br>час стерилізації,<br>мікробіологічний<br>контроль –<br>після<br>стерилізації  | P = 0,05 МПа<br>t = 30 хв<br>t° = 112 °С<br>стерильність                 |
| ДР 3.1.2, 3.2.2<br>Приготування та стерилізація композиції Б<br>К <sub>Т</sub> , К <sub>М</sub> | композиція Б<br>температура,<br>час,<br>стерильність   | манометр<br>технічний,<br>годинник,<br>мікробіологічний<br>контроль                                     | Тиск, час –<br>безперервно під<br>час стерилізації,<br>мікробіологічний<br>контроль –<br>після<br>стерилізації  | P = 0,15 МПа<br>t = 40 хв<br>t° = 131 °С<br>стерильність                 |
| ДР 3.3.1<br>Приготування та стерилізація композиції А<br>К <sub>Т</sub> , К <sub>М</sub>        | композиція А<br>температура,<br>частота<br>обертання<br>мішалки, час і<br>температура<br>стерилізації,<br>тиск,<br>стерильність          | манометр<br>технічний, датчик<br>температури,<br>тахометр,<br>годинник,<br>мікробіологічний<br>контроль | Температура та<br>швидкість<br>перемішування<br>підтримуються<br>автоматично,<br>тиск, час –<br>безперервно під<br>час стерилізації,<br>мікробіологічний<br>контроль –<br>після<br>стерилізації | n = 50 об/хв<br>P = 0,05 МПа<br>t° = 112 °С<br>t = 30 хв<br>стерильність |
| ДР 3.3.2<br>Приготування та стерилізація композиції Б<br>К <sub>Т</sub> , К <sub>М</sub>        | композиція Б<br>рН, температура,<br>тиск, час,<br>стерильність   | датчик рН, датчик<br>температури,<br>манометр,<br>годинник,<br>мікробіологічний<br>контроль             | рН – перед<br>стерилізацією,<br>тиск, час – під<br>час стерилізації,<br>мікробіологічний<br>контроль –<br>після<br>стерилізації   | рН = 4,5<br>P = 0,15 МПа<br>t° = 131 °С<br>t = 40 хв<br>стерильність     |
| ТП 4.1<br>Підтримання<br>колекційної<br>культури<br>К <sub>Т</sub> , К <sub>М</sub>             | колекційна<br>культура<br><i>Lactococcus<br/>lactis subspecies<br/>lactis</i><br>ВКПБ'8558<br>температура,<br>мікробіологічна<br>чистота | датчик<br>температури,<br>мікробіологічний<br>контроль  | Температура –<br>безпосередньо<br>при зберіганні,<br>мікробіологічний<br>контроль –<br>кожні 3-4 місяці   | t° = 4 °С<br>мікробіологічна<br>чистота                                  |
| ТП 4.2<br>Одержання<br>робочої<br>культури<br>К <sub>Т</sub> , К <sub>М</sub>                   | робоча культура<br><i>Lactococcus<br/>lactis subspecies<br/>lactis</i><br>ВКПБ'8558<br>на чашках Петрі<br>температура,<br>час,           | датчик<br>температури,<br>годинник,<br>мікробіологічний<br>контроль                                     | Температура<br>визначається під<br>час вирощування<br>в термостаті,<br>мікробіологічний<br>контроль –<br>після<br>вирощування   | t° = 24 °С<br>t = 11,5 год<br>мікробіологічна<br>чистота                 |

|   |   |   |  |  |
|---|---|---|--|--|
|   | мікробіологічна чистота   |   |  |  |
| <p>ТП 4.3</p> <p>Вирощування інокуляту на агаризованих середовищах</p> <p>К<sub>т</sub>, К<sub>м</sub></p>            | <p>робоча культура</p> <p><i>Lactococcus lactis subspecies lactis</i></p> <p>ВКПБ'8558</p> <p>у пробірках</p> <p>температура, час,</p> <p>мікробіологічна чистота</p> | <p>датчик температури, годинник, мікробіологічний контроль</p>  | <p>Температура - під час вирощування в термостаті, мікробіологічний контроль – після вирощування</p>   | <p>t° = 24 °C</p> <p>t = 11,5 год</p> <p>мікробіологічна чистота</p>   |
| <p>ТП 4.4</p> <p>Вирощування інокуляту в колбах у термостаті</p> <p>К<sub>т</sub>, К<sub>м</sub></p>                  | <p>посівний матеріал</p> <p>температура, час,</p> <p>мікробіологічна чистота</p>  | <p>термометр технічний, годинник, тахометр, мікробіологічний контроль</p>   | <p>Температура - під час культивування, мікробіологічний контроль – після культивування</p>  | <p>t° = 24 °C</p> <p>t = 11,5 год</p> <p>мікробіологічна чистота</p>   |
| <p>ТП 4.5</p> <p>Вирощування культури в інокуляторах об'ємом 110 л</p> <p>К<sub>т</sub>, К<sub>м</sub></p>            | <p>посівний матеріал</p> <p>температура, час, швидкість перемішування, витрата аераційного повітря, концентрація біомаси, мікробіологічна чистота</p>                 | <p>датчик температури та рН, годинник, тахометр, ротаметр, фотометричний зчитувач оптичної густини, мікробіологічний контроль</p> | <p>Температура, рН, частота обертів мішалки та витрата аераційного повітря підтримуються автоматично, визначення концентрації біомаси та мікробіологічний контроль – кожні 2 год і після культивування</p> | <p>pH = 6,5</p> <p>t° = 24 °C</p> <p>t = 11,5 год</p> <p>v = 4 л/(л*год)</p> <p>n = 100 хв<sup>-1</sup></p> <p>X = 7,5 г/л на кінець культивування; мікробіологічна чистота</p>  |
| <p>ТП 5.1</p> <p>Виробниче культивування у ферментері об'ємом 2 м<sup>3</sup></p> <p>К<sub>т</sub>, К<sub>м</sub></p> | <p>культуральна рідина</p> <p>температура, час, швидкість перемішування, рН, концентрація біомаси, концентрація живих клітин, мікробіологічна чистота</p>             | <p>фотометричний зчитувач оптичної густини, датчик температури, рН, годинник, тахометр, ротаметр, мікробіологічний контроль</p>   | <p>t°, рН, швидкість перемішування та витрата аераційного повітря підтримуються автоматично, визначення концентрації біомаси, концентрації живих клітин, мікробіологічний контроль – кожні 2 год</p>       | <p>pH = 6,5</p> <p>t° = 24 °C</p> <p>t = 11,5 год</p> <p>n = 100 хв<sup>-1</sup></p> <p>v = 4 л/(л*год)</p> <p>X = 3 г/л на кінець культивування</p> <p>N = 8,4*9,5 lg КОЕ см<sup>3</sup></p> <p>мікробіологічна чистота</p> |

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Електронний ресурс [Режим доступу]:  
<https://vestibio.belnauka.by/jour/article/view/444/407>
2. Електронний ресурс [Режим доступу]:  
<https://drive.google.com/file/d/1ya3sdkaZc-Q8VzZU5EhVIYDignXPV11h/view>
3. Кігель Н.Ф, Шульга Н.М, Технологічний інститут молока та м'яса УААН [Режим доступу]: <http://dspace.nuft.edu.ua/jspui/handle/123456789/19751>
4. Пат. 2 295 563(13) С1. Штам бактерій *Lactococcus lactis* subspecies *lactis* ВКПБ'8558, використовуваний в виробництві молочних продуктів і спосіб отримання стерильної культури *Lactococcus lactis* subspecies *lactis* ВКПБ'8558 //Ганина В.И, .Рожкова Т.В. 2006.
5. Monica Costals Malvido , Elisa Alonso Gonsalesi // Совместное влияние градиента рН и подачи глюкозы на кинетику роста *Lactococcus lactis* СЕСТ 539 в ограниченных по глюкозе культурах периодического одействия //Polish Journal of microbiology.-2018-.Vol 68 - . N 2 P . 269-280
6. Fatma Zohra Ras El Gherab, Omar Hassaine, Halima Zadi-Karam & Nour-Eddine Karam // Statistical Optimization for the Development of a Culture Medium Based on the Juice of Waste-Dates for Growth of *Lactococcus lactis* LCL Strain by Using the Plackett–Burman and Response Surface Methodology . Waste and Biomass Valorization 2018.- Vol 6 - . N 1 P 2943–2957
7. Общая и пищевая микробиология часть 2, Л.В. Красникова, 2016 [Режим доступу]: [https://lifelib.info/microbiology/food\\_1/10.html](https://lifelib.info/microbiology/food_1/10.html)
8. Антоніна Россова, Луганський національний аграрний університет [Режим доступу]:  
[http://dspace.lgnau.edu.ua/xmlui/bitstream/handle/123456789/1402/181\\_20\\_%D0%A0%D0%BE%D1%81%D1%81%D0%BE%D0%B2%D0%B0.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.lgnau.edu.ua/xmlui/bitstream/handle/123456789/1402/181_20_%D0%A0%D0%BE%D1%81%D1%81%D0%BE%D0%B2%D0%B0.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

9. Електронний ресурс [Режим доступу]: <https://agropolit.com/blog/412-molochna-galuz-ukrayini-ta-yiyi-maybutnye-chez-10-rokiv-problemi-natsionalna-programa-rozvitku-ta-derjavna-pidtrimka>
10. Електронний ресурс [Режим доступу]: <http://tr.knute.edu.ua/files/2011/11/18.pdf>
11. Харчова біотехнологія / Т. П. Пирог, М. М. Антонюк, О. І. Скроцька, Н. Ф. Кігель. – Київ : Видавництво Ліра-К, 2016. – 408 с.
12. Електронний ресурс [Режим доступу]: [https://www.elibrary.ru/title\\_about\\_new.asp?id=7906](https://www.elibrary.ru/title_about_new.asp?id=7906)
13. Електронний ресурс [Режим доступу]: [http://naas.gov.ua/newsall/newsnaan/7381/?fbclid=IwAR1vfOGqN47TW64x5wYXLGekkA7cGISThxnHCyc\\_4Tqtsl-LnVdVAsMaZLc](http://naas.gov.ua/newsall/newsnaan/7381/?fbclid=IwAR1vfOGqN47TW64x5wYXLGekkA7cGISThxnHCyc_4Tqtsl-LnVdVAsMaZLc)
14. Шевченко А. В, у Табачук Н. О, науковий вісник Ужгородського національного університету, Випуск 27, частина 2, 2019, [Режим доступу]: [http://www.visnyk-econom.uzhnu.uz.ua/archive/27\\_2\\_2019ua/20.pdf](http://www.visnyk-econom.uzhnu.uz.ua/archive/27_2_2019ua/20.pdf)
15. Електронний ресурс [Режим доступу]: [http://dspace.lgnau.edu.ua/xmlui/bitstream/handle/123456789/1395/181\\_20\\_Оснач.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.lgnau.edu.ua/xmlui/bitstream/handle/123456789/1395/181_20_Оснач.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
16. Електронний ресурс [Режим доступу]: <https://www.chr-hansen.com/ru>
17. Електронний ресурс [Режим доступу]: <https://www.food.dupont.com>
18. Електронний ресурс [Режим доступу]: [http://scholar.googleusercontent.com/scholar?q=cache:mcJSvsX\\_1JcJ:scholar.google.com/+інститут+продовольчих+ресурсів&hl=uk&as\\_sdt=0,5](http://scholar.googleusercontent.com/scholar?q=cache:mcJSvsX_1JcJ:scholar.google.com/+інститут+продовольчих+ресурсів&hl=uk&as_sdt=0,5)
19. Електронний ресурс [Режим доступу]: <https://www.bio-rus.ru>
20. Патент «Способ обработки молочной сыворотки» [Режим доступу]: <https://findpatent.ru/patent/213/2134992.html>

21. Електронний ресурс [Режим доступу]:

<https://labsklad.com.ua/ua/p379030110-avtoklav-vertikalnojgorizontalnoj-zagruzkoj.html>

22. Електронний ресурс [Режим доступу]: <https://www.growthcurvesusa.com>

23. Власова Г.А. Загальна біохімія/Білгородський державний педагогічний інститут. - Білгород, 1990. - 193 с.