

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)

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

« 10 » грудня 2025 р.

«До захисту допущено»
Завідувач кафедри

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

« 10 » грудня 2025 р.

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ МАГІСТРА

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

освітньо-професійної програми «Промислова та фармацевтична біотехнологія»
на тему: «Антимікробний потенціал метаболітів бактерій роду *Lactobacillus*»

Виконав: здобувач ІІ курсу, групи ПФБ-2-1М

БОРОВА Марія Олександрівна
(прізвище, ім'я, по батькові повністю) _____ (підпис)

Керівник СТАРОВОЙТОВА Світлана Олександрівна
(прізвище, ім'я та по батькові повністю) _____ (підпис)

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

Рецензент Максим ТАНАНА
(ім'я та прізвище) _____ (підпис)

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

Здобувач _____

(підпис)

Київ – 2025 р.

5. Перелік графічного матеріалу

Технологічні та апаратурні схеми (2 креслення формату А3 та 2 креслення формату А1)

6. Консультанти розділів роботи

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

7. Дата видачі завдання 01 жовтня 2025 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Літературний огляд	01.10.2025 – 12.10.2025	
2	Техніко-економічне обґрунтування використання пентоцину ZFM94	13.10.2025 – 18.10.2025	
3	Обґрунтування вибору стадій виділення та очищення пентоцину ZFM94	19.10.2025 – 22.10.2025	
4	Опис технологічної схеми виробництва пентоцину ZFM94	23.10.2025 – 26.10.2025	
5	Контроль виробництва пентоцину ZFM94	27.10.2025 – 01.11.2025	
6	Технологічні особливості отримання плівки з пентоцином ZFM94	02.11.2025 – 10.11.2025	
7	Методи контролю виробництва плівки з пентоцином ZFM94	11.11.2025 – 14.11.2025	
8	Проект заявки на корисну модель одержання біоактивного пакувального матеріалу	15.11.2025 – 20.11.2025	
9	Графічна частина	21.11.2025 – 24.11.2025	
10	Оформлення кваліфікаційної роботи	25.11.2025 – 26.11.2025	

Здобувач _____
(підпис)

Марія БОРОВА _____
(ім'я та прізвище)

Керівник роботи _____
(підпис)

Світлана СТАРОВОЙТОВА _____
(ім'я та прізвище)

ABSTRACT

The subject of this qualification work concerns the technology for obtaining the bacteriocin pentocin ZFM94, synthesized by the strain *Lactobacillus pentosus* ZFM94. The proposed application area for pentocin ZFM94 is the food industry, specifically as an antimicrobial basis for producing active packaging for sausage products. The annual requirement for the bacteriocin is 7 kg, the number of working days is 330, and the volume of the fermenter is 10 m³.

The technological scheme for obtaining the bacteriocin substance includes the following stages: phase separation of the culture liquid by centrifugation, ultrafiltration of the supernatant for concentration, precipitation with saturated ammonium sulfate, as well as desalting and concentration by ultrafiltration. The parameters for controlling the substance production involve the description, molecular weight, study of the antibacterial spectrum and minimum inhibitory concentrations, stability under pH changes, heating, and enzyme exposure.

The antimicrobial film is capable of extending product shelf life, improving sensory properties, and the use of biomaterials allows it to be an economic and ecological alternative to standard packaging. The production process includes auxiliary stages (preparation of the bacteriocin solution) and the technological process of film production (soaking, washing, drying, packaging, labeling, shipping).

Technological specifications for the film with pentocin ZFM94 have been developed. Quality indicators include: appearance, thickness, transparency, solubility, biological activity, packaging, labeling, shelf life, and storage conditions.

The qualification work comprises 8 sections, 89 literature sources, 5 tables, and 82 pages. The graphic part is presented by technological and equipment diagrams (2 drawings of A3 format and 2 drawings of A1 format).

Keywords: bacteriocin, *Lactobacillus pentosus* ZFM9, antimicrobial film, pentocin ZFM94, antibacterial activity, technical specifications.

РЕФЕРАТ

Тема даної кваліфікаційної роботи стосується технології одержання бактеріоцину пентоцину ZFM94, синтезованого штамом *Lactobacillus pentosus* ZFM94. Запропонована галузь використання пентоцину ZFM94 це харчова промисловість, зокрема як антимікробну основу для отримання активного пакування для ковбасних виробів. Річна потреба в бактеріоцині становить 7 кг, кількість трудоднів – 330, об'єм ферментера складає 10 м³.

Технологічна схема отримання субстанції бактеріоцину передбачає наступні етапи: розділення фаз культуральної рідини центрифугуванням, ультрафільтрацію супернатанту з метою концентрування, осадження насиченим сульфатом амонію, а також знесолення та концентрування методом ультрафільтрації. Параметри контролю виробництва субстанції полягають у описі, молекулярній масі, дослідженні антибактеріального спектру та мінімальних інгібуючих концентрацій, стабільність при зміні рН, нагріванні та впливу ферментів.

Антимікробна плівка здатна продовжити термін придатності продукції, покращити сенсорні властивості, а використання біоматеріалів дозволяє їй бути економічною та екологічною альтернативою стандартному пакуванню. Виробничий процес включає допоміжні етапи (приготування розчину бактеріоцину) та технологічний процес виробництва плівки (замочування, промивання, висушування, пакування, маркування, відвантаження).

Розроблено технологічні умови на плівку пентоцином ZFM94. Показники якості: зовнішній вигляд, товщина, прозорість, розчинність, біологічна активність, пакування, маркування, термін придатності та умови зберігання.

Кваліфікаційна робота містить 8 розділів, 89 літературних джерел, 5 таблиць та 82 сторінки. Графічна частина представлена технологічними та апаратурними схемами (2 креслення формату А3 та 2 креслення формату А1).

Ключові слова: бактеріоцин, *Lactobacillus pentosus* ZFM9, антимікробна плівка, пентоцин ZFM94, антибактеріальна активність, технічні умови.

ЗМІСТ

ABSTRACT	4
РЕФЕРАТ	5
ВСТУП	8
<i>Новизною</i> даної роботи є використання штаму молочнокислих бактерій <i>Lactobacillus pentosus</i> ZFM94, що синтезує бактеріоцин пентоцин за 18-20 годин. Концентрація утвореного пентоцину ZFM94 становить 3,65 мг/л.	9
РОЗДІЛ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД	10
1.1. Метаболіти бактерій роду <i>Lactobacillus</i>	10
1.1.1. Органічні кислоти	11
1.1.2. Екзополісахариди	12
1.1.3. Поверхнево-активні речовини	13
1.1.4 Перекис водню	15
1.1.5 Бактеріоцини	16
1.2. Бактеріоцини бактерій роду <i>Lactobacillus</i> та їх застосування у якості харчових біоконсервантів	17
РОЗДІЛ 2. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИКОРИСТАННЯ ПЕНТОЦИНУ ZFM94	26
2.1. Характеристика пентоцину ZFM94, синтезованого <i>Lactobacillus pentosus</i> ZFM94	28
2.2. Огляд пакування з антимікробною активністю, призначеного для харчових продуктів	30
2.3. Розрахунок річної потужності виробництва пентоцину ZFM94	32
РОЗДІЛ 3. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ СТАДІЙ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ ПЕНТОЦИНУ ZFM94	37
3.1. Обґрунтування вибору післяферментаційних стадій для одержання пентоцину ZFM94	37
3.1.1. Відділення клітин продуцента	38
3.1.2. Очищення та концентрування	39
3.1.3. Осадження	41
3.1.4. Знесолення та концентрування	42
3.1.5. Пакування, маркування, відвантаження	43

3.2. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях.....	43
3.3. Специфікація обладнання для виробництва пентоцину ZFM94	47
РОЗДІЛ 4. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИРОБНИЦТВА ПЕНТОЦИНУ ZFM94	48
РОЗДІЛ 5. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА ПЕНТОЦИНУ ZFM94	50
РОЗДІЛ. 8. ПРОЄКТ ЗАЯВКИ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ ОДЕРЖАННЯ БІОАКТИВНОГО ПАКУВАЛЬНОГО МАТЕРІАЛУ	66
8.1. Галузь застосування корисної моделі	66
8.2. Відомі аналоги та їх основні недоліки.....	66
8.3. Опис запропонованого способу	68
8.4. Формула корисної моделі	69
8.5. Реферат	69
ВИСНОВКИ.....	70
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	72

ВСТУП

Молочнокислі бактерії – це група грампозитивних, неспороутворюючих, каталазонегативних мікроорганізмів з високою толерантністю до низького рівня рН, представлених коками або паличками. Молочнокислі бактерії є одними з найважливіших груп мікроорганізмів, які використовуються для ферментації харчових продуктів, а також для покращення смаку та текстури ферментованих харчових продуктів. Вони класифікуються на гомоферментативні та гетероферментативні мікроорганізми на основі продуктів ферментованих вуглеводів. Гомоферментативні молочнокислі бактерії переважно синтезують молочну кислоту з цукрів, тоді як гетероферментативні представники утворюють молочну кислоту, оцтову кислоту або спирт та вуглекислий газ. Крім того, деякі види молочнокислих бактерій продукують антимікробні пептиди, відомі як бактеріоцини. На сьогоднішній день досліджено деякі ізоляти молочнокислих бактерій з роду *Lactobacillus* та їхні бактеріоцини, що застосовуються для консервування харчових продуктів та контролю патогенів людини (Мокоена М.,2017; Fernandes, A.,2022).

Бактеріоцини – це невеликі катіонні молекули, що складаються приблизно з 30–60 амінокислот, що утворюють амфіфільні спіралі та стабільні при 100 °С протягом 10 хвилин. Ці антимікробні сполуки відрізняються спектром активності, механізмом дії, молекулярною масою, генетичним походженням та біохімічними властивостями. Бактеріоцини синтезуються рибосомами як первинні метаболіти для забезпечення конкурентної переваги молочнокислих бактерій за поживні речовини в навколишньому середовищі. Водночас штами-продуценти бактеріоцинів захищають себе від власних антимікробних метаболітів шляхом експресії специфічного білка імунітету, закодованого в бактеріоциновому опероні. Нещодавні дослідження засвідчують, що використання гетероферментативних штамів *Lactobacillus* spp. у виробництві молочних продуктів зменшує популяції технологічно шкідливих мікроорганізмів, які негативно впливають на якість, безпеку та термін придатності готової харчової продукції (Мокоена,2017; Fernandes,2022).

					НУХТ БТЕК 02.01.16 КР ПЗ			
Зм.	Арк.	№ докум	Підпис	Дата				
Розроб.		Борова М.О.			Вступ	Літера	Аркуш	Аркуші
Перевір.		Старовойтова					8	88
Консульт.						Кафедра БТМ		
Н. контр.								
Зав.кафедр.		Стабніков В.П.						

Отже, у харчовій промисловості бактеріоцини служать природними консервантами, ефективно пригнічуючи поширені харчові патогени, такі як *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* та *Staphylococcus aureus*. Підвищуючи безпеку харчових продуктів та зменшуючи залежність від хімічних консервантів, бактеріоцини, синтезовані молочнокислими бактеріями, відповідають споживчому попиту на натуральні та екологічно чисті продукти. Так, нізін А став першим бактеріоцином, широко використовуваним для консервування харчових продуктів. Сучасні літературні відомості засвідчують, що бактеріоцини класифікуються Управлінням з контролю за продуктами харчування та лікарськими засобами США (FDA) як «харчові» або «загально визнані безпечними» (GRAS) (Chen та ін., 2025)

Завдяки своїм унікальним властивостям та широкому потенціалу застосування, зокрема і в харчовій промисловості, бактеріоцини є перспективними інструментами для підвищенні безпеки харчових продуктів, що є **актуальним** питанням в сучасному світі.

Новизною даної роботи є використання штаму молочнокислих бактерій *Lactobacillus pentosus* ZFM94, що синтезує бактеріоцин пентоцин за 18-20 годин. Концентрація утвореного пентоцину ZFM94 становить 3,65 мг/л.

РОЗДІЛ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

1.1. Метаболіти бактерій роду *Lactobacillus*

Останні десятиліття ознаменувалися значним прогресом у розумінні ролі мікроорганізмів у підтримці здоров'я людини. Молочнокислі бактерії (МКБ) здатні виробляти широкий спектр біологічно активних сполук, які відіграють ключову роль у підтримці балансу мікрофлори кишечника та сприяють загальному добробуту організму. Бактерії роду *Lactobacillus* є ключовими представниками МКБ. Це грампозитивні, нерухомі факультативні анаероби, що не утворюють спор, традиційно використовуються у харчовій промисловості для ферментації широкого спектру продуктів, зокрема молочні продукти (йогурти, сири, кефір), рослинна продукція (соління), м'ясних продуктах, а також є частиною природнього мікробіому людини та тварин, колонізуючи ротову порожнину, шлунково-кишковий тракт та урогеніталії (зокрема піхву). Є важливою групою молочнокислих бактерій, корисні властивості яких можуть бути використані в різних галузях, зокрема в медицині, фармакології та харчовій промисловості через біоактивні метаболіти, що виділяються бактеріями під час метаболізму. Бактеріям роду *Lactobacillus* надано статус GRAS (Generally Recognized as Safe), що вказує на можливість використовувати їх та їх метаболіти без ризику для здоров'я людини. До основних метаболітів, що володіють антимікробними властивостями відносять пептиди, екзополісахариди, органічні кислоти. Дослідження антимікробного потенціалу має критичне значення у питанні розробки нових і безпечних біоконсервантів та створення пробіотиків нового покоління. За рахунок активності лактобацили стали популярним продуктом в терапевтичному харчуванні (de Mesquita та ін.,2017). За кінцевим продуктом ферментації лактобактерії поділяють на гомоферментативні та гетероферментативні. Гомоферментативні характеризуються своєю здатністю продукувати молочну кислоту у процесі гліколізу та засвоюють гексози. В свою чергу облігатні гетероферментативні лактобактерії здатні продукувати декілька метаболітів шляхом ферментації гексоз (молочна, оцтова кислоти, етанол та вуглекислий газ). Також в

					НУХТ БТЕК 02.01.16 КР ПЗ			
Зм.	Арк.	№ докум	Підпис	Дата				
Розроб.		Борова М.О.			РОЗДІЛ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД	Літера	Аркуш	Аркушів
Перевір.		Старовойтова					10	40
Консульт.						Кафедра БТМ		
Н. контр.								
Зав.кафедр.		Стабніков В.П.						

залежності від наявності вуглеводів, існує група факультативні гетероферментативні лактобактерії, що здатні змінювати шляхи свого метаболізму. Здатні ферментувати глюкози гліколітичними шляхами або пентозофосфатним шляхом засвоювати пентози (при цьому не продукуючи CO₂), оскільки наявні обидва ферменти: фруктозо-1,6-дифосфат альдолаза та фосфокетолаза (de Mesquita та ін.,2017; Drissi та ін.,2017). Визначено, що антимікробний потенціал утворених метаболітів бактерій роду *Lactobacillus* може проявлятися двома основними шляхами: цитоплазматичним підкисленням, що призводить до зниження внутрішньоклітинного рН або накопичення дисоційованих кислотних аніонів, що порушує функцію клітини патогена, спричиняє осмотичний стрес та призводить до загибелі (Marcelli та ін.,2024).

1.1.1. Органічні кислоти

Шляхом ферментації вуглеводів бактеріями роду *Lactobacillus* утворюються органічні кислоти – молочна та оцтова. Продуктивність та вихід метаболітів залежить від рівня рН (у діапазоні 3,5–9,6), температури (5–45 °С), додаткових складових поживного середовища (таких як амінокислоти, пептиди, нуклеотиди та вітаміни), а також ферментативних шляхів. Як зазначалось раніше, в процесі гомоферментативного шляху МКБ продуктом метаболізму є молочна кислота, в свою чергу гетероферментативний механізм дозволяє отримати такі кінцеві продукти, як молочна, оцтова кислоти, етанол та вуглекислий газ (CO₂) (Wang та ін.,2021; Vintsis,2018; de Mesquita та ін.,2017). В якості субстратів для ферментації можуть використовуватись численні доступні агропромислові відходи та побічні продукти з низькою економічною цінністю. Серед них виділяють ресурси, багаті на моно- та дисахариди, такі як меляса, відходи соків, крохмалиста біомаса, а також сільськогосподарські та лісогосподарські відходи, які іноді потребують пектиназної обробки для підвищення виходу з виробництва молочної кислоти. При використанні молочної сироватки необхідне застосування поживних збагачених середовищ для компенсації слабкої активності протеолітичних ферментів (Abedi& Hashemi,2020).

Антибактеріальний ефект, який чинить молочна кислота, може бути пояснений як інактивація патогенів шляхом витоку білків з клітин. За допомогою трансмісійної

електронної мікроскопії (ТЕМ) у дослідженні (Wang та ін.,2015) визначено, що бактеріальні клітини, що були оброблені молочною кислотою, мали пошкодження зокрема порушення структури клітинної мембрани. У тестових штамів мікроорганізмів *Salmonella enteritidis* (АТСС 14028), *L. monocytogenes* (АТСС 19115) та *E. coli* (СГМСС 1.2385) були помітні увігнуті западини та проміжки, що вказує на утворення пор у цитоплазматичній мембрані та втрата клітиною життєздатності за рахунок витіку внутрішньоклітинних компонентів.

Штами роду *Lactobacillus* також здатні продукувати різноманітні органічні кислоти, яким властива антибактеріальна властивість. В дослідженні (Szczerbiec та ін.,2022) описано здатність МКБ виробляти лимонну, бурштинову, пропіонову та масляну кислоти. Один із запропонованих механізмів дії органічних кислот на патогени є здатність органічних кислот порушувати структуру мембрани клітини патогену, що призводить до їх загибелі. Дослідження зосереджене на позаклітинних метаболітах *Lactobacillus*, виділених з сечі людини та їх антибактеріальної дії на клітини *Proteus mirabilis* – патогену, що викликає інфекції сечовідних шляхів. У концентрації 10 мМ лимонна та 50 мМ бурштинова кислоти проявляли здатність до пригнічення росту та утворення біоплівки патогеном, механізмом дії зазначено здатність проникати у мембрану та порушувати функції клітини. Антибактеріальна дія має потенціал у застосування органічних кислот бактерій роду *Lactobacillus* у складі лікарських засобів для фармацевтичної промисловості.

Як інгібітори росту мікроорганізмів, дія органічних кислот є комплексною та за рахунок зменшення проникності мембран здатна посилювати активність інших антимікробних метаболітів. До того ж, органічні кислоти знижують рН середовища, окислюючи його, таким чином забезпечуючи бактерицидну дію для патогенних мікроорганізмів, у харчових продуктах використовуються як консервант, ферментація продукції, у виноробстві (Szczerbiec та ін.,2022).

1.1.2. Екзополісахариди

Екзополісахариди (ЕПС) – це біорозкладні полімери, що утворюються з цукрових моносахаридів. Забезпечує пробіотичні властивості ферментованій продукції, що містить бактерії роду *Lactobacillus*, можуть впливати на специфічну

структуру та в'язкість. Згідно своєї основи складу цукрової складової та довжини ланцюга ЕПС класифікуються на гомополісахариди (складається з одного типу моносахаридів) та гетерополісахариди (різні типи моносахаридів). Антимікробна активність екзополісахаридів проявляється як щодо грампозитивних так і грамнегативних патогенів, однак, основний функціональний механізм потребує додаткового дослідження (Abdalla та ін.,2021). Припускається, що ЕПС *Lactobacillus* містять кілька функціональних груп, наприклад, карбонільні, фосфатні та гідроксильні групи, які безпосередньо проявляють антимікробні властивості (Riaz Rajoka та ін.,2020). В умовах *in vitro* ЕПС, вироблений *L. rhamnosus*, що було ізольовано із грудного молока людини, проявляв антибактеріальну активність проти патогенів *Salmonella enterica serovar, Typhimurium* та *Escherichia coli* (Riaz Rajoka та ін., 2018). Гетерополісахарид *Lactobacillus gasseri* був здатен пригнічувати *Listeria monocytogenes* МТСС 657, що може бути застосовано у харчовій промисловості (Rani та ін., 2018; Abdalla та ін.,2021).

Окрім антибактеріальних властивостей, ЕПС здатні до імуномоделюючих компетенцій взаємодіючи з шлунково-кишковою мікробіотою організму хазяїна підтримуючи здоров'я кишківника та сприяють колонізації бактеріями. Здатні індукувати імуноглобулін А (IgA), стимулювати вироблення макрофагами цитокінів, TNF- α , IL-6 та IL-12. Досліджено протизапальну та протипухлинну дію метаболітів, що має потенціал у застосуванні їх у фармацевтичній промисловості в якості пробіотичних та терапевтичних препаратів. У харчовій промисловості можуть використовуватись у якості стабілізаторів та емульгаторів, володіють вологозатримуючою здатністю (Abdalla та ін.,2021).

1.1.3. Поверхнево-активні речовини

Поверхнево-активні речовини – це вторинні метаболіти, що володіють антимікробною та антиплівковою активністю, їм властива висока біорозкладність, більшість має низьку токсичність, є терморезистентними та витримують широкі діапазони рН. Вони є альтернативою використання хімічних сполук, можуть застосовуватись у медичній, фармацевтичній, косметичній та харчовій галузях завдяки своїй екологічності, біорозкладності та наявними антимікробними та

антибіоплівковими властивостями. Згідно своєї структури ПАР поділяються на гліколіпіди – молекула жирної кислоти, що зв'язується з молекулою ліпиду з глікозидним зв'язком, а також ліпопептиди – мають ліпідний хвіст з молекул, о можуть бути розташовані лінійно або циклічно (Ribeiro та ін.,2020).

У дослідженні (Adnan та ін.,2023) ПАР були отримані з *Lactobacillus acidophilus* та перевірялись на потенціал пригнічення активності проти *Pseudomonas aeruginosa*, *Chromobacterium violaceum* та *Serratia marcescens* – патогенів, що можуть викликати шкірні захворювання шляхом деструкції тканин, формують біоплівки, підвищуючи адгезію до поверхонь та синтезують позаклітинний матрикс. Для аналізу антибактеріального потенціалу застосовувались методи дифузії в агар, лунки інокулювали 60 мкл біосурфактантом та інкубували за температури 37°C протягом 24 годин, вимірювали зони інгібування. Для аналізу біоплівкового ефекту інкубація відбувалась у пробірці та качалках протягом 72 годин за кімнатної температури. Результат утворення біоплівок визначали шляхом забарвлення кристалічним фіолетовим та подальший вимір оптичної густини.

Тест антибактеріальної активності показав мінімальні інгібуючі концентрації (МІК) 2,5 мг/мл для *C. violaceum*, *P. aeruginosa* й 5 мг/мл проти *S. marcescens*. ПАР продемонстрували зменшення розвитку біоплівки із збільшенням концентрації на 65,76%, 70,64% та 58,12% для *C. violaceum*, *P. aeruginosa* та *S. marcescens* відповідно. Методом дії може виступати пригнічення ПАР вироблення ЕПС патогенними бактеріями, що зменшувалось при обробці біосурфактантами. Досліджувані ПАР мають потенціал використання у якості терапевтичних засобів наступного покоління як альтернатива антимікробним препаратам, до яких патогенні мікроорганізми мають високий рівень стійкості (Adnan та ін.,2023).

В іншому дослідженні було досліджено дію гліколіпідних ПАР, що проявляють пригнічення бактеріальної адгезії щодо таких патогенів, як *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* та *E. coli*. Продуцентом є *Lactobacillus rhamnosus* MZ496826, інгібуючу активність біосурфактанту визначали за методом дифузії в агарові лунки проти грампозитивних (*B. subtilis*, *S. aureus*) та грамнегативних бактерій (*E. coli*, *P. aeruginosa*), що є патогенами харчових продуктів. Оцінювали МІК та МБК.

Зазначено, що показники МІК неочищеного біосурфактанту *L. rhamnosus* знаходились у діапазоні від 12,5 до 50 мг/мл, а значення МБК були вдвічі вищими за отримані значення МІК. Антибіоплівкова активність становила 70,49 % для *B. subtilis*, 66,65% для *E. coli*, 59,78% для *P. aeruginosa* та 55,77% для *S. aureus*. Визначено, що даний ПАР був здатен до пригнічення прикріплення клітин бактерій до поверхонь, в результаті чого порушувалось формування біоплівки патогенами та зміна їх цілісності та життєздатності. ПАР здатні до зміни функції мембрани клітин патогенних бактерій, що викликає лізис клітини та подальший витік важливих метаболітів (Patel та ін.,2021).

1.1.4 Перекис водню

H_2O_2 є метаболітом, який виробляється в результаті метаболізму бактерій роду *Lactobacillus* у якості захисної функції, допомагає пригнічувати ріст патогенних мікроорганізмів, особливо таких, що колонізують піхву, асоціюються з бактеріальним вагінозом. До основних продуцентів у контексті урогенітального здоров'я відносять *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus iners* та *Lactobacillus jensenii*, які є аеротолерантними мікроорганізмами та не мають ферменту каталази тому перекис водню накопичується як побічний продукт метаболізму. (Tachedjian та ін.,2017; Tachedjian та ін.,2018). H_2O_2 у вагінальній мікрофлорі при лікуванні антибіотиками спричиняє зсув балансу прооксидантів та антиоксидантів у клітинах патогенів, а окислювальний стрес, що виникає в цьому випадку, підвищує чутливість бактерій до антибіотиків. Генерує високореактивні вільні радикали, що призводить до окисного пошкодження клітинних біомолекул, що призводить до порушення важливих клітинних функцій патогенів (Sgibnev& Kremleva,2016).

Також (Dashe та ін.,2020) проведено дослідження використання H_2O_2 -продукуючих МКБ у харчовій промисловості, а зокрема вивченні впливу лактопероксидазної системи активованої МКБ, на якість та тривалість зберігання сирого верблюжого молока за кімнатної температури. В ході дослідження доведено ефективність використання вироблення перекису водню як біологічну альтернативу хімічним реакціям активації системи. Дослідження може бути використано як

альтернативний метод консервації продуктів харчування без додавання хімічних сполук та в регіонах, де може бути відсутнім холодильні ланцюги.

1.1.5 Бактеріоцини

Бактеріоцини – це антимікробні рибосомальні пептиди або білки, продуцентами яких є грампозитивні та грамнегативні МКБ. Продуценти виробляють даний пептид, як частину захисту від навколишнього середовища. Вони стійкі до бактеріоцинів, що виробляють за рахунок імунних білків, що не дають пошкодити цілісність клітини власними бактеріоцинами. (Banerjee та ін.,2022). В залежності від структури, молекулярної маси та фізико-хімічних властивостей, бактеріоцини поділяють на три класи (Solis-Balandra& Sanchez-Salas,2024; Kumariya та ін.,2019).

Бактеріоцини I класу – мають низьку молекулярну масу (менше 5 кДа), складаються з 19-50 амінокислот, є термостабільними. Відомі також як лантибіотики, у їх структурі є висока частка латіоніну та метиллатіоніну та ненасичені амінокислоти. За рахунок структури здатні утворювати внутрішньомолекулярні кільцеві структури через дисульфідні зв'язки. Клас розділяють на два підрозділи:

- Клас Ia – позитивний заряд, розміри 2-4 кДа, видовжена або лінійна структура, є гідрофобними.
- Клас Ib – не мають сумарного заряду, або він негативний, негнучкі, розмірами 2-3 кДа.

Пептиди II класу або нелантибіотик має молекулярну масу менше 10 кДа, містять від 30 до 60 амінокислот, позитивно заряджені та гнучкі. Демонструють термостабільність при високих температурах та широкому діапазоні рН. Дані бактеріоцини відзначаються вузьким спектром антимікробної активності та поділяються на чотири підкласи:

- IIa – складається з бактеріоцинів, що проявляють антибактеріальну активність проти *Listeria*, патогену, що викликає харчові отруєння. Мають гідрофільні ділянки, термостійкі та складаються з 35 до 50 амінокислот.
- IIb – діють синергічно для досягнення антимікробного ефекту, немодифікований двопептидний бактеріоцин

- Пс – має кільцеву структуру, містить 35 до 70 амінокислот, позитивно заряджений та проявляє стійкість до протеолітичних ферментів.
- Пд – лінійні пептиди, що не проявляють антагоністичної активності проти *Listeria*

Бактеріоцини III класу мають великі молекулярні маси – понад 30 кДа та є термочутливими. При нагріванні до 100°C втрачають свою активність через 30 хвилин.

Дані метаболіти виробляються позаклітинно під час пізньої експоненціальної до ранньої стаціонарної фази росту. Гени, якими синтезуються бактеріоцини, розташовані на плазмідах або хромосомах МКБ.

У різних галузях бактеріоцини мають переваги застосування як пробіотичні або харчові консерванти, стимулятори росту рослин, засоби лікування та підтримки здоров'я людей та тварин. В даній роботі розглянуто антимікробний потенціал бактеріоцинів як біоконсервантів, що є альтернативою хімічним добавкам для подовження терміну зберігання харчових продуктів. Досліджувані білки здатні покращувати якість, сенсорні властивості та продовжувати термін придатності продукції (Kumariya та ін.,2019).

1.2. Бактеріоцини бактерій роду *Lactobacillus* та їх застосування у якості харчових біоконсервантів

У медичній практиці бактеріоцини мають потенціал застосування проти мікроорганізмів, що не чутливі до сучасних антибіотиків, як альтернативні препарати для вирішення антимікробної резистентності. До того ж, антибактеріальний потенціал бактеріоцинів може бути застосовано у сфері здоров'я для відновлення балансу мікробіоти. Розроблення пробіотичних препаратів зі штамів *Lactobacillus*, що виробляють бактеріоцини, може застосовуватись як терапія лікування дисбактеріозу. У протипухлинній терапії бактеріоцини з позитивним зарядом можуть чинити селективний цитотоксичний ефект на ракові клітини, що має перспективне значення у розробці препаратів для підтримуючої терапії (Anjana та ін.,2022; Zimina та ін.,2020).

Завдяки своєму статусу загальноновизнаними як безпечні, бактеріоцини у харчовій промисловості можуть використовуватись як біоконсерванти. Їх застосовують у рецептурі або обробці м'яса, молочних продуктів, сирів, овочах та фруктах. Дозволеними для вживання бактеріоцинами є класи I та II. Для використання у харчовій промисловості, метаболіти повинні пригнічувати ріст різних грампозитивних та грамнегативних бактерій та харчових патогенів, зокрема *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus* sp. та *Clostridium* sp. (Ren та ін.,2022; Aljohani та ін.,2023). Наразі комерційно представленими бактеріоцинами є нізин та педіоцин, що використовуються у якості біоконсервантів у 48 країнах. Їх антибактеріальна дія направлена на грампозитивні бактерії однак не проявляють інгібуючого ефекту проти грамнегативних патогенів, тому важливими є пошук альтернативних бактеріоцинів та їх застосування в якості біоконсервантів. Продуценти та характеристики отримання їх бактеріоцинів наведено у *табл.1.1*.

Інгібування шляхом утворення пор є одним із механізмів, за допомогою якого бактеріоцини здатні чинити антимікробну дію. Білки зв'язуються зі специфічними рецепторами на клітинній стінці патогенів та формують пори, збільшуючи проникність клітин і сприяючи її загибелі. Дані бактеріоцини являють собою водорозчинні мономери, вони здатні зв'язуватись з ліпідною мембраною клітин та олігомеризуватись, утворюючи пре-пори. Це порушує осмотичний тиск в клітині та призводить до втрати іонів калію та магнію, що вважається основним фактом загибелі клітин (Omersa та ін.,2019). Іншим методом інгібування біосинтезу клітинної стінки є порушення синтезу пептидоглікану, зв'язування з ліпідом II – попередником КС (Scherer та ін.,2015).

Дослідження антимікробного потенціалу бактеріоцинів бактерій роду *Lactobacillus*

Продуцент	Бактеріоцин	Середовище культивування	Умови культивування	Активність/концентрація	Етапи виділення та очищення	Антимікробна активність	Сфери застосування	Джерело
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> 1.0320	Бактеріоцин 1.0320 (I класу, антибактеріальна дія полягає у порушенні цілісності мембранної клітини за рахунок утворення пор, що збільшують проникність; Температурні та рН межі не зазначено)	MRS бульйон	36°C, 21 год	278,261 AU/мг	Центрифугування (8000 об/хв, 10 хв); осадження NaOH; ультрафільтрація; 1 мг/мл каталази	Грамнегативні бактерії (<i>E. coli</i> UB 1005)	Біоконсервант (харчова промисловість)	Xu, C., Fu, Y., Liu, F., Liu, Z., Ma, J., Jiang, R., Song, C., Jiang, Z., & Hou, J. (2021). Purification and antimicrobial mechanism of a novel bacteriocin produced by <i>Lactobacillus rhamnosus</i> 1.0320. <i>LWT</i> , 137, 110338.

<i>Latilactobacillus curvatus</i> sp.LAB-3H	Бактеріоцин LAB-3H (II клас бактеріоцинів, діапазон рН від 2,5 до 6,0)	MRS бульйон	37°C, 28 год	3985,15 AU/мг	Центрифугування (12000 об/хв, 5 хв); Осадження амонієм сульфатом (45-85%); ультрафільтрація; діаліз	Грамнегативні (<i>Escherichia coli</i> PTCC1276) та грампозитивні бактерії (<i>Listeria monocytogenes</i> PTCC1294; <i>Bacillus cereus</i> ; <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213; <i>Micrococcus luteus</i> PTCC 1408)	Біоконсервант (харчова промисловість)	Heidari, Z., Ghasemi, M. F., & Modiri, L. (2021). Antimicrobial activity of bacteriocin produced by a new <i>Latilactobacillus curvatus</i> sp.LAB-3H isolated from traditional yogurt. <i>Archives of Microbiology</i> , 204(1).
<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> XN2	Бактеріоцин XN2 (II клас; Температурні та рН межі не зазначено)	MRS бульйон	37°C, 30 год	3200 AU/мл	Оброблення амоній сульфатом; центрифугування (10000 об/хв, 30 хв); концентрування роторним випарюванням; ресуспендування буфером (рН 3,6)	Грампозитивні (<i>Bacillus subtilis</i> , <i>B. cereus</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Brochothrix thermosphacta</i> , <i>Clostridium butyricum</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Listeria innocua</i> CICC 10416, <i>L. Monocytogenes</i>) грамнегативні (<i>Escherichia coli</i>)	Біоконсервант (харчова промисловість)	Wei, Y., Wang, J., Liu, Z., Pei, J., Brennan, C., & Abd El-Aty, A. M. (2022). Isolation and Characterization of Bacteriocin-Producing <i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> XN2 from Yak Yoghurt and Its Bacteriocin. <i>Molecules</i> , 27(7), 2066.

<i>Lactobacillus paracasei</i> WX322	Паракасеї WX322 (формує пори у клітинній мембрані чутливих бактерій. Це призводить до порушення мембранного потенціалу, витоку внутрішньоклітинного вмісту та загибелі клітини)	Відходи рослинного виробництва (томатний сік)	37°C, 24 год	640 АУ/мл	Центрифугування; роторний випарювач	<i>Pectobacterium cartovorum</i>	Біоконсервант (харчова промисловість)	Zhu, R., Liu, X., Li, X., Zeng, K., & Yi, L. (2021). Transformation of Inferior Tomato into Preservative: Fermentation by Multi-Bacteriocin Producing <i>Lactobacillus paracasei</i> WX322. <i>Foods</i> , 10(6), 1278.
<i>Lactobacillus helveticus</i> 34.9	Бактеріоцин 34.9 (бактеріоцин III класу. Термолабільний - активність значно знижується після 15 хвилин інкубації при 60°C і зникає після 15 хв при 100°C. Висока стабільність у широкому діапазоні рН (від 2.0 до 10.0))	MRS бульйон	37°C, 24 год	200 АУ/мл	Центрифугування (13000 об/хв, 10 хв); осадження; промивання ультрачистою водою	Широкий спектр антимікробної дії (пригнічує ріст як близькоспоріднених бактерій, так і інших видів, включаючи деякі патогени та бактерії, що спричиняють псування продуктів та <i>Halobacillus huananensis</i>)	Біоконсервант (харчова промисловість) Фармацевтична промисловість; Реставрація історичних будівель для боротьби з галобактеріями (<i>Halobacillus huananensis</i> - спричиняє псування фресок)	Angelescu, I.-R., Grosu-Tudor, S.-S., Cojoc, L.-R., Maria, G.-M., Chiritoiu, G. N., Munteanu, C. V. A., & Zamfir, M. (2022). Isolation, characterization, and mode of action of a class III bacteriocin produced by <i>Lactobacillus helveticus</i> 34.9. <i>World Journal of Microbiology and Biotechnology</i> , 38(12).

<i>Lactobacillus paracasei</i> ZFM54	Бактеріоцин ZFM54 (II клас; високотермостабільний - зберігає 72% активності після кип'ятіння при 100°C протягом 30 хвилин. Найбільш активний у кислому середовищі; формує пори у клітинній мембрані чутливих бактерій. Це призводить до порушення мембранного потенціалу, витоку внутрішньоклітинного вмісту та загибелі клітини)	MRS бульйон	37 °C, 24 год	1457, 08 АУ/мл	Центрифугування 8000 об/хв, 20 хв, 4°C Макропориста адсорбційна смола XAD-16 (крок 1), катіонообмінна хроматографія (крок 2), гел'єфільтраційна хроматографія на Sephadex G-25 (крок 3) та ВЕРХ з оберненою фазою (крок 4).	Активний проти багатьох грампозитивних і, що особливо важливо, грамнегативних бактерій, що є рідкістю для бактеріоцинів. Він ефективний проти таких харчових патогенів, як <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Micrococcus luteus</i> та <i>Listeria monocytogenes</i>	Біоконсервант (харчова промисловість). Можливість використання в термічно оброблених харчових продуктах. Придатним для використання в кислих харчових продуктах	Ye, P., Wang, J., Liu, M., Li, P., & Gu, Q. (2021). Purification and characterization of a novel bacteriocin from <i>Lactobacillus paracasei</i> ZFM54. <i>Lwt</i> , 143, 111125.
--------------------------------------	---	-------------	---------------	----------------	--	---	---	---

<i>Lactobacillus plantarum</i> SHY 21–2	Плантарицин SHY 21–22 (ІІд клас; термостабільний – здатен витримувати 121°C протягом 15 хвилин)	MRS бульйон	37 °C, 48 год.	40 АУ/мл	Центрифугування (15557 об/хв, 10 хв); висолювання амонієм сульфатом; промивання буферами; ВЕРХ	Грампозитивні, грамнегативні бактерії та гриби, включаючи <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923, <i>Salmonella typhi</i> CMCC50071, <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC976	Біоконсервант (харчова промисловість). Можливість використання в термічно оброблених харчових продуктах через високу термостабільність	Peng, S., Song, J., Zeng, W., Wang, H., Zhang, Y., Xin, J., & Suo, H. (2021). A broad-spectrum novel bacteriocin produced by <i>Lactobacillus plantarum</i> SHY 21–2 from yak yogurt: Purification, antimicrobial characteristics and antibacterial mechanism. <i>LWT</i> , 142, 110955.
<i>Lactobacillus pentosus</i> ZFM94	Пентоцин ZFM94 (Термостабільний (30 хв при 80°C) та демонструє інгібіторну активність у широкому діапазоні рН (5,00–7,00). Розкладається трипсином та пепсином, але не амілазою, лізоцимом, ліпазою та рибонуклеазою А.	MRS бульйон	37°C, 20 год	3,65 мг/л	Центрифугування (8000 об/хв, 4°C 20 хв); осадження сульфатом амонію; ВЕРХ з оберненою фазою	Грампозитивні та грамнегативні бактерії, гриби (в т.ч. <i>S. aureus</i> , <i>M. luteus</i> , <i>E. coli</i> , <i>L. monocytogenes</i> та <i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	Біоконсервант (харчова промисловість, медицина, ветеринарія)	Dai, M., Li, Y., Xu, L., Wu, D., Zhou, Q., Li, P., & Gu, Q. (2021). A novel bacteriocin from <i>Lactobacillus pentosus</i> ZFM94 and Its antibacterial mode of action. <i>Front Nutr</i> 8: 7108621

	Індукує порушення клітинної мембрани та спричиняє витік клітинного вмісту)							
<i>Lactobacillus plantarum</i> B21	Плантациклін B21AG (тимчасово стабільний, термостабільний, активний у широкому діапазоні рН та частково стійкий до протеолізу)	MRS бульйон	30°C, 24 год, без перемішування	Не вказано	Центрифугування (5000 об/хв, 20 хв, 4°C); концентрування супернатанту, екстракція розчинником, знесолення та катіонообмінна хроматографія	Грампозитивні бактерії (<i>Clostridium perfringens</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> A6, <i>Lactobacillus plantarum</i> ATCC 8014a, <i>Lactobacillus arabinosus</i> 17-5b, <i>Lactococcus lactis</i> 345-18b, <i>Lactobacillus brevis</i> 19012b)	Біоконсервант (харчова промисловість)	Golneshin, A., Gor, M. C., Vezina, B., Williamson, N., Van, T. T. H., May, B. K., & Smith, A. T. (2020). Discovery and characterisation of novel circular bacteriocin plantacyclin B21AG from <i>Lactobacillus plantarum</i> B21

Виділення бактеріоцинів для визначення їх антимікробних властивостей можуть проводитись за допомогою методу агарових лунок, методу дифузійних лунок, перехресного посіву, дискової дифузії. Дані методи направлені на визначення здатності бактеріоцинів інгібувати ріст індикаторних штамів. Як показано у табл.2.1. бактеріоцини лактобактерій проявляють антагоністичну дію проти багатьох грампозитивних, грамнегативних бактерій та грибів, вони є термостабільними та активними у широких діапазонах рН, проявляють інгібуючу активність проти патогенів, що призводять до псування харчової продукції. Важливою перевагою обраного бактеріоцину – пентоцину ZFM94 також можна вважати чутливість до трипсину та пепсину – травних протеаз. Тоді, попадаючи до шлунку з продуктів, обраний білок не буде мати негативного впливу на мікробіоту шлунково-кишкового тракту (Nájera & Albisu,2021).

Синтезований пентоцин ZFM94 проявляє свою антибактеріальну дію шляхом порушення клітинної мембрани та спричиняючи витік. Молекулярна маса очищеного бактеріоцину становить <5 кДа, відноситься до II класу бактеріоцинів, має білкову природу, проявляючи активність проти *L. monocytogenes* LM1, а також *M. luteus* 10209, *S. aureus* D48, *E. coli* DH5 α , *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ATCC14028 та *Saccharomyces cerevisiae* SM190, *S. carnosus* pot20. Значення мінімальних інгібуючих концентрацій (МІК) для *M. luteus* 10209, *S. aureus* D48 та *E. coli* DH5 α сягали 1,75, 2,00 та 2,50 мкМ відповідно, що є точним проявом антибактеріальних властивостей.

Так як пентоцин ZFM94 буде використовуватись у харчовій промисловості, важливим було визначення термостійкості на діапазон рН. Дослідження показали, що бактеріоцин здатен зберігати свою повну активність після впливу температури від 50 до 80°C протягом 30 хвилин, а також у діапазоні рН від 3 до 6 був відзначений найкращий бактеріостатичний ефект, при доведенні рН до 10 активність зменшувалась (Dai та ін.,2021).

ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

РОЗДІЛ 2. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИКОРИСТАННЯ ПЕНТОЦИНУ ZFM94

Бактеріоцини – це низькомолекулярні, термостабільні, антимікробні та рибосомно-активні пептиди, які синтезуються багатьма видами мікроорганізмів, включаючи молочнокислі бактерії. Вони проявляють антимікробну активність проти харчових патогенних бактерій та певних видів грибів.

Бактеріоцини можуть знищувати або пригнічувати штами мікроорганізмів, що не синтезують бактеріоцини. Однак вони не завдають шкоди бактеріям-продуцентам бактеріоцинів, оскільки такі біологічні агенти зазвичай синтезують білки самоіммунітету, які захищають їх від знищення власними бактеріоцинами. Вважається, що білки імунітету захищають клітини-продуценти шляхом поглинання бактеріоцинів або за рахунок антагоністичної конкуренції за рецептор бактеріоцину. Комбінування декількох видів бактеріоцинів може покращити їхній захисний ефект і знизити частоту виникнення резистентності до антимікробних препаратів (Verma та ін.,2022).

У харчовій промисловості бактеріоцини служать натуральними добавками для подовження терміну придатності харчових продуктів. Крім того, бактеріоцини можуть покращувати якість та органолептичні властивості харчових продуктів – прикладом цього є запобігання псування сиру та підвищення швидкості його протеолізу. Бактеріоцини виступають в ролі харчових консервантів завдяки їхній стабільності в широкому діапазоні рН та температур. Ці сполуки не мають смаку, кольору та запаху і можуть легко проникати в харчову матрицю. Крім того, бактеріоцини є безпечними при вживанні, порівняно з хімічними консервантами, споживання яких може мати негативні наслідки (Putri та ін.,2024).

					НУХТ БТЕК 02.01.16 КР ПЗ		
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>			
<i>Розроб.</i>		Борова М.О.			<i>Літера</i>	<i>Аркуш</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>		Старовойтова				26	2682
<i>Консульт.</i>					Кафедра БТМ		
<i>Н. контр.</i>							
<i>Зав.кафедр.</i>		Стабніков В.П.					
РОЗДІЛ 2. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ							

Механізм дії бактеріоцинів як протимікробних засобів можна описати наступним чином. Бактеріоцини, як правило, мають вузький спектр дії та проявляють бактеріостатичну та бактерицидну дію на ті види бактерій, що тісно пов'язані зі штамом-продуцентом. Антимікробна активність може проявлятися з лізисом клітин або без нього. При концентраціях, вищих за природні рівні, пептид демонструє дуже сильну антимікробну активність проти патогенних бактерій, включаючи грампозитивні та грамнегативні бактерії, такі як *Micrococcus* sp., *Shigella* sp., *Streptococcus* sp., *Vibrio* sp., *Bacillus cereus*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium tyrobutyricum*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori* NCIPD 230, *Listeria innocua*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* та *Staphylococcus aureus*.

Кожен бактеріоцин має специфічний механізм дії залежно від його первинної структури, фізико-хімічних характеристик, посттрансляційних модифікацій, штаму продуцента та використовуваної концентрації. Ці механізми включають дію, зосереджену на клітинній мембрані або адсорбції на поверхні цільової мікробної клітини, а також лізис клітин, та активність, що викликає пригнічення синтезу білка та експресії генів (Putri та ін.,2024).

Антимікробний механізм бактеріоцинів різних класів показано на рис. 2.1.

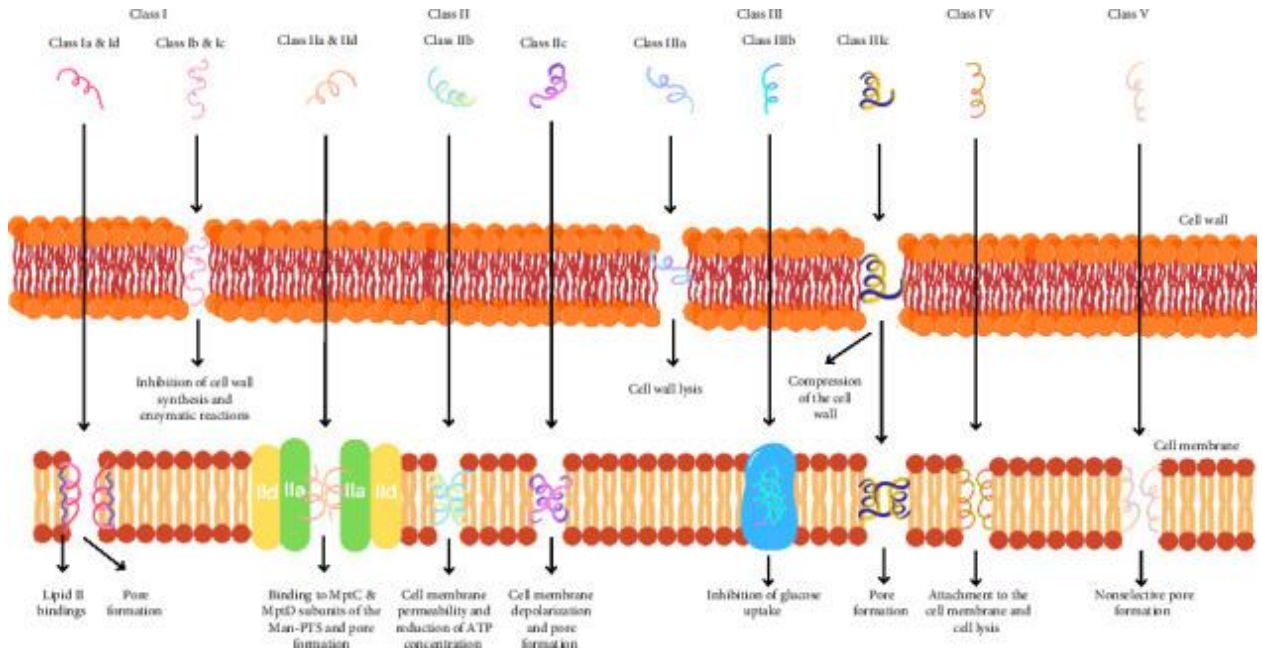


Рис. 2.1. Механізм дії бактеріоцинів як антимікробних засобів (Putri та ін.,2024).

Таким чином, унікальні властивості бактеріоцинів обумовлюють їх використання у харчовій промисловості.

2.1. Характеристика пентоцину ZFM94, синтезованого *Lactobacillus pentosus* ZFM94

Слід загалом відмітити, що бактеріоцини, синтезовані представниками роду *Lactobacillus*, розглядаються як перспективні інструменти у харчовій промисловості, медицині та пробіотичних технологіях (Мокоена М.,2017; Goel,2020):

1) Стабільність і промислова цінність

Бактеріоцини класу II характеризуються високою стійкістю до нагрівання та широкого діапазону рН, що робить їх ефективними консервантами у ферментованих харчових продуктах і напоях. Така стабільність дозволяє застосовувати їх як альтернативу або доповнення до хімічних консервантів (Мокоена М.,2017);

2) Безпечність для продуцента та можливість горизонтального перенесення

Штами-продуценти забезпечені імунними білками, які захищають їх від власних бактеріоцинів. Гени бактеріоцинів часто локалізуються на плазмідах, що створює передумови для горизонтального переносу між бактеріями і може сприяти поширенню цих властивостей серед представників мікробіоти (Chanos та ін.,2016).

3) Застосування в медицині

Специфічні бактеріоцини, наприклад лактоцин 160, демонструють вибіркову активність проти патогенів, асоційованих із бактеріальним вагінозом, при цьому не пригнічуючи нормальну вагінальну мікрофлору. Це відкриває можливості створення нових пробіотичних препаратів для профілактики та лікування інфекцій.

4) Харчова промисловість

Використання бактеріоцинів розглядається як один із ключових напрямів зменшення застосування традиційних антибіотиків у харчових технологіях та ветеринарії. Їхня висока ефективність проти *Listeria monocytogenes* та інших харчових патогенів робить їх цінними агентами для підвищення безпечності харчових продуктів (Ramu та ін.,2017).

5) Перспективність майбутнього використання

Щодо бактеріоцину пентоцину ZFM94, синтезованого *L. pentosus* ZFM94, стаття (Goel та ін., 2020) засвідчує, що пентоцин ZFM94 продемонстрував інгібуючий вплив на більшість грампозитивних бактерій, деякі грамнегативні бактерії та гриби. Серед використаних тест-культур пентоцин ZFM94 проявляв високу активність проти *M. luteus* 10209, *S. aureus* D48 та *E. coli* DH5 α . Крім того, він інгібував *L. monocytogenes* LM1, *Salmonella enterica subsp. enterica* ATCC14028 та *Saccharomyces cerevisiae* SM190. Пентоцин ZFM94 також інгібував грампозитивні бактерії *S. carnosus* pot20 та *L. monocytogenes* LM1, а також *Saccharomyces cerevisiae* SM190. Ці результати продемонстрували, що пентоцин ZFM94 має широку антибактеріальну активність.

Також проводили дослідження антимікробної дії пентоцин ZFM94 методом мінімальної інгібуючої концентрації (МІК). Значення мінімальних інгібуючих концентрацій (МІК) для *M. luteus* 10209, *S. aureus* D48 та *E. coli* DH5 α становили 1,75, 2,00 та 2,50 мкМ відповідно, що демонструвало очевидну антибактеріальну активність (Goel та ін., 2020).

Таким чином, пентоцин ZFM94 може ефективно застосовуватися в харчовій промисловості для підвищення мікробіологічної безпеки продуктів, продовження терміну їх зберігання.

2.2. Огляд пакування з антимікробною активністю, призначеного для харчових продуктів

Пакування має забезпечувати збереження як кількісних, так і якісних характеристик товару, захищаючи його від механічних, хімічних, кліматичних, біологічних та інших впливів у процесі транспортування, зберігання та реалізації. Відповідно до вимог нормативних документів, зокрема національного стандарту ДСТУ-Н ISO/IEC Guide 41:2004 Настанови стосовно пакування. Положення, спрямовані на задоволення потреб споживача (ISO/IEC Guide 41:2003, IDT), пакування повинно гарантувати доставку продукції споживачеві у технічному стані, визначеному виробником, оберігати її від негативних факторів зовнішнього середовища та запобігати погіршенню споживчих властивостей протягом усього терміну придатності за звичайних умов використання, транспортування та зберігання (Калініна, 2017).

Сучасні технології пакування активно використовують бактерицидні та фунгіцидні матеріали для захисту продуктів від дії патогенної мікрофлори. Сануючий ефект таких матеріалів досягається завдяки введенню у структуру пакувального матеріалу спеціальних наночастинок з антимікробними властивостями, нанесенню антибактеріальних покриттів (композицій) або використанню добавок біоцидної дії. Зокрема, наночастинок композитного срібла розміром 1–2 нм проявляють високу бактерицидну активність проти як аеробних, так і анаеробних мікроорганізмів, у тому числі й антибіотикорезистентних штамів. Вони мають тривалу дію та

характеризуються дуже низькою токсичністю. Інший підхід передбачає нанесення на м'ясні вироби, сири та інші продукти захисного багатошарового поліфункційного покриття, яке без використання високих температур пригнічує розвиток небажаної мікрофлори. Такі покриття не лише мають антимікробну активність, але й зменшують втрати маси продукту (Peredriy,2021).

Активні системи активного вивільнення, що містяться в упаковці, мають на меті забезпечити контрольоване вивільнення сполук, здатне забезпечити оптимальний рівень вологості, інгібування розвитку шкідливих мікроорганізмів та запобігання псуванню харчових продуктів під дією бактерій. Ефективним антимікробним агентом може служити карбон діоксид. Для отримання карбон діоксиду використовують системи, що містять ферум (II) карбонат, комбінації бікарбонату натрію та лимонної кислоти тощо. На практиці зазвичай використовуються саше або подушечки з подвійною дією емітерів CO₂ та поглиначів O₂. В якості антимікробного агента також використовують етанол, який особливо ефективно пригнічує розвиток дріжджів і бактерій, що, зокрема, значно подовжує термін зберігання хлібобулочних виробів. Вивільнювачі етанолу застосовують у вигляді саше або плівок, що можуть також містити ароматизатори для маскування спиртового запаху (Woraprayote та ін.,2017).

Наразі в розробці представлено виготовлення біопластичних плівок за основу яких береться хітозан або комплекс хітозану та агар-агару з додаванням бактеріоцинів з метою використання у харчовій промисловості для упаковки продукції. Методом додавання активних сполук є як нанесення їх на поверхню поліетиленової плівки, так і додавання очищеного екстракту бактеріоцину у рецептуру. У дослідженні нанесення бактеріоцину соноресину та нізину на поліетиленову плівку низької щільності було продемонстровано інгібуючу активність проти *S. aureus* та *E. coli*. Нанесені білки проявляли здатність пригнічення утворення біоплівок та передчасне біообростання молочних продуктів. Однак даний метод має недоліки у вигляді використання

поліетиленової плівки, що потребує довшого часу на розкладання та має гідрофобну поверхню, що може ускладнювати процес рівномірного покриття і подальшого вивільнення бактеріоцинів для контакту з харчовою продукцією (Chopra та ін.,2015).

Альтернативою поліетиленових плівок низької щільності є виготовлення біопластичної плівки на основі хітозану та агар-агару з додаванням бактеріоцинів. Агар-агар є природним полісахаридом, це термопластичний, біосумісний та біорозкладний матеріал. Хітозан також є природним матеріалом, що отримують переважно з залишків панцирів ракоподібних, екзоскелетів комах та клітинної мембрани грибів. Об'єднання даних полімерів дозволяє синтезувати біопластичну плівку з матеріалів, що є більш екологічними (Contessa та ін.,2021).

Отже, наразі перспективним напрямком удосконалення пакувальних матеріалів є використання продуктів біотехнології, які дозволять включати нові антимікробні сполуки в пакувальні матеріали.

2.3. Розрахунок річної потужності виробництва пентоцину ZFM94

Наразі активно вивчаються технології виробництва пакувальних матеріалів з додаванням до них бактеріоцинів для забезпечення активімікробних властивостей упаковки (Woraprayote та ін.,2017; Chopra та ін.,2015; Gumienna& Górna,2021).

У сучасному виробництві ковбас застосовують як натуральні, так і штучні одно- та багат шарові оболонки, які забезпечують надійний захист від проникнення газів, води, жиру, кисню та ультрафіолету. Прискорений розвиток пакувальної індустрії, що орієнтується переважно на синтетичні полімери, а також стан тваринництва в Україні спричинили зміщення акценту виробництва на користь штучних плівок. Проте попит на натуральні кишкові оболонки залишається стабільно високим завдяки їх природному походженню та універсальним властивостям. Основними факторами, що обмежують ширше використання натуральних оболонок, є прижиттєві та технологічні дефекти, нестабільність довжини та калібру, а також підвищена проникність.

Остання стає причиною технологічного браку готової продукції, значних втрат під час виготовлення і зберігання ковбас, що у підсумку знижує рентабельність виробництва. Водночас вирішення питання регулювання проникності натуральних оболонки ускладнюється необхідністю її точного визначення (Михайлов та ін.,2016).

Як натуральні оболонки використовують черви баранячі, черви свинячі, круги яловичі, синюги яловичі, сечові міхурі свинячі, сечові міхурі яловичі (Михайлов та ін.,2016).

Але відіграє значну роль і зовнішнє пакування ковбасних виробів. Упаковка ковбасних виробів повинна забезпечувати безпечне транспортування, захищати продукцію від негативного впливу зовнішніх факторів, насамперед мікроорганізмів, під час зберігання, запобігати її деформації та сприяти подовженню терміну придатності. Крім того, сучасна упаковка повинна бути спроектована та виготовлена таким чином, щоб її можна було повністю переробити відповідно до принципів циркулярної економіки (Кірович,2024).

З метою збільшення терміну зберігання ковбас виробники застосовують різні види бар'єрних плівок і пакетів, вакуумну упаковку або пакування у модифікованій атмосфері (Кірович,2024).

Вакуумна упаковка є оптимальним рішенням для тривалого зберігання майже всіх видів ковбасних виробів, оскільки вона добре зберігає смак, аромат та текстуру продукту. Водночас слід враховувати, що цей спосіб пакування вимагає спеціального обладнання для створення вакууму. Вартість такого обладнання зазвичай залежить від матеріалу, потужності та модифікації і може значно варіюватися. Наприклад, вакуумно-термоусадкова упаковка застосовується переважно для фасованих шматкових продуктів.

Технологія skin-упаковки є різновидом вакуумного пакування, при якому плівка щільно прилягає до продукту, повторюючи всі його контури, немов друга шкіра. Цей спосіб ефективно зберігає соковитість ковбас та робить їх візуально привабливими для споживачів. Крім того, високі бар'єрні

властивості плівки, що застосовується у такій технології, сприяють подовженню терміну зберігання продукції.

Технологія FLOW-PACK застосовується для пакування сосисок, великих батонів ковбаси та шинки. Спочатку вироби фасують у трьохшовні пакети, виготовлені з рулону термозварювальної плівки, а потім їх вакуумують. При цьому можна використовувати плівки з різними бар'єрними властивостями.

Ще одним сучасним методом пакування є упакування у модифікованій атмосфері. При цьому використовують щільну газонепроникну плівку, у яку поміщають продукт, а за допомогою спеціальних пакувальних машин заповнюють упаковку сумішшю газів. Зазвичай така суміш містить близько 50% вуглекислого газу, а також азот і кисень. Цей метод дозволяє подовжити термін зберігання ковбасних виробів без погіршення їх текстури та смакових якостей. Водночас через високу вартість обладнання його застосовують переважно на промислових підприємствах (Кірович,2024).

Станом на початок 2025 року населення України оцінювалось приблизно 37,9 млн осіб за даними Українського Human Capital Chartbook, що посилається на оцінку Організації Об'єднаних Націй (ООН) (Chartbook,2025).

Отже, для розрахунків оберемо групу населення, що складатиметься з підлітків та дорослих людей. За демографічними звітами ООН та Держстату (дані, зібрані до війни) відомо, що в Україні населення віком 10-64 роки становило близько 65-67%, а віком від 65 років – близько 20-21% (Population, 2024). Якщо кількість населення загалом 37,9 млн, то цільова група населення, що вживатиме ковбасу у плівці власного виробництва, становить 34,3 млн осіб.

Для забезпечення оберемо більш вузьку вікову групу. Згідно з Digital 2024 / DataReportal (Chartbook,2025), у віковій групі 18-24 роки станом на 2024 рік знаходилось 4,4 % населення. Тоді 4,4 % від 37,9 млн населення це близько 1 667 600 людей. Прийmemo, що споживати ковбасу у плівці власного виробництва буде 1,5% людей вікової групи 18-24 роки - 25 588 людей.

Для розрахунків приймемо, що добове споживання ковбаси становитиме 100 г на добу для 1 людини. Тоді 25 588 осіб за добу споживають ковбаси:

$$25\,588 \times 0,1 = 2\,558,8 \text{ кг}$$

Знаючи добову потребу, розрахуємо річну потребу у ковбасі. Врахуємо, що на ринку України безліч різноманітних ковбасних продуктів і ковбасу цільова група населення буде споживати близько 14 днів на рік:

$$2\,558,8 \times 14 = 35\,824 \text{ кг}$$

Враховуючи, що ковбасні вироби виготовляють різних форм, відповідно вироби мають різноманітний об'єм, приймемо, що для пакування 1 кг ковбаси потрібна упаковка розмірами $270 \text{ мм} \times 360 \text{ мм} \approx 1 \text{ м}^2$.

Тоді для пакування 35 824 кг ковбаси потрібно плівки - 35 824 м².

Дослідження показує, що при виробництві плівки додавали 19,54 мкг/см² бактеріоцину (Woraprayote та ін., 2017). Це дорівнює 0,1954 г/м². Тоді для виробництва 23 346 м² плівки потрібно пентоцину ZFM94:

$$0,1954 \times 35\,824 = 7 \text{ кг пентоцину ZFM94}$$

У роботі (Goel та ін., 2020) описано, що штам *Lactobacillus pentosus* ZFM94 синтезує бактеріоцин пентоцин за 18-20 годин. Концентрація утвореного пентоцину становила 3,65 мг/л. Даний бактеріоцин є термостабільний (30 хв при 80°C) та демонструє інгібуючу активність у широкому діапазоні рН (5,00–7,00). У дослідженнях з тест-культурами пентоцин індукував порушення клітинної мембрани та спричиняв витік клітинного вмісту. Тому приймаємо, що даний продуцент є найкращим біологічним агентом і будемо використовувати дані цієї статті у подальших розрахунках.

Знаючи концентрацію пентоцину в культуральній рідині, розрахуємо об'єм культуральної рідини, потрібний для одержання 7 кг пентоцину ZFM94:

$$0,00365 \text{ г} - 1 \text{ л}$$

$$7000 \text{ г} - X \text{ л}$$

$$X = 1\,917\,808 \text{ л}$$

На стадіях виділення та очищення пентоцину ZFM94 виникнуть втрати, приймаємо 20%, тоді культуральної рідини потрібно:

$$V_p = 1\,917\,808 / 0,8 = 2\,397\,260 \text{ л}$$

Приймаємо кількість трудоднів ($T_{рд}$) – 330. Тоді об'єм культуральної рідини за добу (V_d) становитиме:

$$V_d = V_p / T_{рд} = 2\,397\,260 / 330 = 7\,264 \text{ л}$$

Тривалість циклу ферментації ($T_{цф}$) становить 26 годин (20 год – тривалість виробничої ферментації, 6 год – час підготовки ферментера до роботи) (Пирог та ін.,2024). Об'єм культуральної рідини, що зливається за одну ферментацію ($V_{цк}$), буде становити:

$$V_{цк} = K1 \times V_d \times T_{цф} / 24 = 1,1 \times 7\,264 \times 26 / 24 = 8\,656 \text{ л/цикл}$$

де $K1$ – коефіцієнт запасу, що враховує можливість нестерильних операцій ($K1 = 1,1 - 1,5$). Приймаємо значення даної величини рівним 1,1.

Біологічний агент *Lactobacillus pentosus* є факультативним анаеробом (Tabascof та ін.,2023). Приймаємо коефіцієнт заповнення ферментеру 0,85, що є відповідним до кисневого статусу обраного продуцента пентоцину ZFM94, то для напрацювання 8 656 л культуральної рідини потрібен ферментер:

$$V_{ф} = 8\,656 / 0,85 \approx 10 \text{ м}^3.$$

Таким чином, щоб покрити потребу у пентоцині ZFM94 в складі упаковки для ковбаси необхідно отримати 8 656 л культуральної рідини і для цього слід передбачити наявність ферментеру об'ємом 10 м³.

РОЗДІЛ 3. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ СТАДІЙ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ ПЕНТОЦИНУ ZFM94

3.1. Обґрунтування вибору післяферментаційних стадій для одержання пентоцину ZFM94

У статті (Goel та ін., 2020) наведено, що штам *Lactobacillus pentosus* ZFM94 синтезує бактеріоцин пентоцин за 18-20 годин. Концентрація утвореного пентоцину становила 3,65 мг/л. Для одержання синтезованого метаболіту проводили такі етапи виділення та очищення:

- 1) Культуральну рідину після культивування біологічного агента піддавали центрифугуванню в режимі 8000 об/хв за температури 4°C протягом 20 хвилин;
- 2) Утворений супернатант піддавали осадженню насиченим сульфатом амонію (градієнт від 10 до 90%);
- 3) Осаджений білок (бактеріоцин) збирали центрифугуванням в режимі 8000 об/хв за температури 4°C протягом 20 хвилин;
- 4) Бактеріоцин розчиняли у фосфатно-сольовому буфері (рН 3,69) та проводили знесолювання шляхом проведення діалізу (мембрана з розміром пор 1 кДа);
- 5) Активні фракції очищували за допомогою високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) на колонці Sephadex G-25 (GE Healthcare, 1,6 × 80 см), врівноваженій та елюйованій надчистою водою зі швидкістю 1 мл/хв. Елюент збирали кожні 3 хвилини. Цей крок використовувався для розділення компонентів у діапазоні молекулярної маси від 1 до 5 кДа;
- 6) Елюат, що містить бактеріоцин, концентрували за допомогою вакуумного роторного випарника (Goel та ін., 2020).

Згідно даних статті, в результаті отримали бактеріоцин пентоцин ZFM94

НУХТ БТЕК 02.01.16 КР ПЗ				
Зм.	Арк.	№ докум	Підпис	Дата
Розроб.		Борова М.О.		
Перевір.		Старовойтова		
Консульт.				
Н. контр.				
Зав. кафедр.		Стабніков В.П.		
РОЗДІЛ 3. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ СТАДІЙ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ				
		Літера	Аркуш	Аркушів
			37	37 ⁸²
Кафедра БТМ				

чистотою 98,7%. Такий ступінь очищення відповідає ширшому спектру анимікробної активності. Однак описана вище методика виділення та очищення пентоцину є лабораторною, тому здійснимо її адаптацію до виробничих умов.

3.1.1. Відділення клітин продуцента

У результаті процесу біосинтезу утворюється культуральна рідина або твердофазна культура, яка містить клітини мікроорганізмів, залишки поживного середовища, а також різноманітні позаклітинні метаболіти та інші компоненти (Карлаш, 2022).

Однак у випадку виділення позаклітинного метаболіту необхідно одержати звільнену від клітин фазу культуральної рідини.

Розділення культуральної рідини на рідку та тверду фази є енерго- та ресурсомістким процесом, оскільки передбачає обробку значних об'ємів суспензій. Для підвищення ефективності цього етапу та зменшення втрат цільового продукту культуральну рідину зазвичай попередньо піддають спеціальній обробці. Унаслідок цього змінюється структура осаду, що сприяє максимальному переходу продукту в потрібну фазу для подальшого виділення, а також видаленню домішок, які ускладнюють очищення. Залежно від властивостей культуральної рідини та необхідного ступеня розділення дисперсної фази, застосовують процеси фільтрації, центрифугування, а іноді — флотації (Карлаш, 2022).

Під фільтруванням розуміють процес розділення твердої та рідкої фаз шляхом пропускання суспензії через пористу перегородку (фільтр). На сьогодні до методів фільтрування також відносять мембранні процеси, які дають змогу відокремлювати від дисперсійного середовища не лише тверді частинки, а й розчинені речовини, утворюючи концентрати цих сполук та пермеати.

Центрифугування — це процес розділення неоднорідних рідких систем під дією відцентрових сил. У мікробіологічній промисловості центрифуги широко застосовують для поділу суспензій на рідку та тверду фази, які містять

мікроорганізми, ферменти, амінокислоти та інші продукти біосинтезу як кристалічної, так і аморфної природи.

Флотацію застосовують переважно у виробництві кормових дріжджів. Її суть полягає в тому, що культуральну рідину, отриману після біосинтезу, піддають спінюванню, внаслідок чого основна частина дріжджових клітин концентрується у пінній фракції. Відокремлення цієї піни від рідини дає змогу отримати напівпродукт, у якому вміст біомаси у 2–4 рази перевищує початкову концентрацію в культуральній рідині (Карлаш, 2022).

Отже, метод флотації у даному випадку не підходить взагалі, оскільки технологічна схема стосується одержання бактеріоцину бактеріального походження. У свою чергу, основними перевагами центрифугування є висока продуктивність, значний ступінь концентрування, що робить даний метод придатним при використанні як в лабораторних, так і в промислових умовах. Хоча центрифугування є дорогішим методом, однак він проявляє високу ефективність у випадках поганого фільтрування суспензії через фільтр, необхідності максимального звільнення культуральної рідини від біомаси та інших твердих частинок, а також забезпечення безперервності процесу, у той час як фільтри розраховані на періодичний режим роботи (Кравченко та ін., 2019).

Таким чином, слід проводити розділення фаз культуральної рідини шляхом центрифугування. Відповідно до даних статті, культуральну рідину після культивування біологічного агента піддавали центрифугуванню в режимі 8000 об/хв за температури 4°C протягом 20 хвилин (Goel та ін., 2020). Але в промислових умовах на промисловій центрифусі великого об'єму зазвичай встановлюють режим обертання 5000 об/хв. Зупинимось на цьому режимі центрифугування, адже його цілком реально здійснити у виробничих умовах.

3.1.2. Очищення та концентрування

Щодо мембранних методів розділення та концентрування, то до них відносять мікрофільтрацію, діаліз, електродіаліз, зворотний осмос і

ультрафільтрацію. В усіх випадках застосовуються напівпроникні мембрани. Мембранні методи мають низку переваг: відсутність температурного, механічного чи хімічного впливу на оброблюваний продукт; простоту апаратурного оформлення та відсутність рухомих частин; низьке енергоспоживання, а також можливість забезпечення герметичності й асептичності процесу (Карлаш, 2022).

Так, ультрафільтрація – це процес очищення та концентрування розчинів високомолекулярних сполук (наприклад, ферментів) із одночасним видаленням низькомолекулярних домішок шляхом пропускання розчину через мембрану з порами розміром 0,01–0,1 мкм. Основним завданням ультрафільтрації є концентрування високомолекулярних речовин, розчинених у рідині.

Головним елементом ультрафільтраційної системи є полімерна мембрана, яка зазвичай являє собою плівку, що обмежено набрякає у воді. У суцільних плівках транспорт речовин відбувається переважно шляхом дифузії, тому швидкість фільтрування є невисокою. Цей недолік частково усувають за допомогою анізотропних мембран, які складаються з тонкого непористого гелевого шару, нанесеного на мікропористу підкладку товщиною 0,1–1 мкм.

Сучасні ультрафільтраційні та зворотноосмотичні процеси базуються переважно на використанні мікропористих анізотропних або ізотропних мембран. На відміну від мікрофільтрації чи звичайного фільтрування, ультрафільтрація затримує окремі молекули високомолекулярних сполук. При цьому відбувається не класичне розділення фаз, а перерозподіл розчинених речовин у рідкій фазі (Карлаш, 2022).

Однією з основних переваг ультрафільтрації є її висока ефективність концентрування. Метод дає змогу значно зменшити об'єм культуральної рідини або розчину, не змінюючи при цьому хімічного складу та структури продукту. Це особливо важливо при роботі з біологічно активними речовинами, які можуть бути чутливими до високих температур або агресивних хімічних агентів.

Процес ультрафільтрації відбувається за м'яких умов, що є ще однією важливою перевагою цього методу. Оскільки він проводиться при низьких температурах і невеликому тиску, біомолекули не зазнають денатурації або руйнування, а їхня біологічна активність зберігається.

Велике значення має також селективність ультрафільтрації. Мембрани для цього процесу виготовляються з різними номінальними молекулярними межами пропускання (cut-off), що дозволяє точно розділяти речовини за їхньою молекулярною масою. Завдяки цьому можливо одночасно концентрувати цільовий білковий продукт і очищати його від низькомолекулярних домішок, таких як солі, амінокислоти або залишкові метаболіти. Ще однією важливою перевагою є стерильність і безпечність процесу. Мембрана діє як фізичний бар'єр для мікроорганізмів, тому ультрафільтрація може одночасно виконувати функцію стерилізаційного фільтрування.

Порівняно з традиційними методами очищення, такими як хроматографія або рідинна екстракція, ультрафільтрація має економічні переваги. Вона не потребує дорогих реагентів, органічних розчинників або великих обсягів допоміжних матеріалів. Мембрани, які використовуються в системі, можуть бути багаторазово відновлені та очищені, що зменшує експлуатаційні витрати. У результаті ультрафільтрація є не лише ефективною, а й економічно доцільною технологією на промисловому рівні (Карлаш та ін.,2022; Zydney,202; Fragomeni та ін.,2015; Huang та ін.,2015).

Згідно статті (Golneshin та ін.,2020), одержаний супернатант концентрували методом ультрафільтрації з використанням полієфірсульфонової (ПЕС) мембрани з розміром пор 10 кДа. Таким чином, використаємо ПЕС мембрану із вказаним розміром пор.

3.1.3. Осадження

Осадженням називають процес, за якого внаслідок додавання певних реагентів або зміни фізико-хімічних умов середовища розчинена речовина — найчастіше білок — переходить із розчину в твердий осад (Карлаш та ін.,2022).

Ефект осадження білків зумовлений тим, що в присутності органічного розчинника знижується активність води. Із підвищенням концентрації розчинника зменшується здатність води сольватувати заряджені гідрофільні ділянки білкових молекул. При цьому діелектрична стала розчинника зменшується, молекули води витісняються з поверхні білка і частково закріплюються органічним розчинником унаслідок гідратації білкової молекули. Молекули води, які знаходяться на гідрофобних ділянках, можуть заміщуватися молекулами органічного розчинника. У результаті цього розчинність білків зменшується, білкові молекули агрегують і випадають в осад.

Агрегування білків відбувається під дією електростатичних і ван-дер-ваальсових сил, що виникають між окремими білковими молекулами. Гідрофобна взаємодія при цьому відіграє меншу роль через вплив органічних розчинників на неполярні ділянки білкової глобули.

Органічний розчинник, який застосовують для осадження, має повністю змішуватися з водою та не вступати у зв'язування з білком. Під час вибору розчинника необхідно враховувати його можливу токсичність, вибухонебезпечність і здатність до регенерації (Карлаш та ін.,2022).

Отже, отриманий на попередньому етапі супернатант будемо піддавати осадженню насиченим сульфатом амонію (градієнт від 10 до 90%).

3.1.4. Знесолення та концентрування

Для виділення цільового бактеріоцину необхідно провести знесолення та концентрування розчину.

Як було вказано вище, однією з основних переваг ультрафільтрації є її висока ефективність концентрування. Метод дає змогу значно зменшити об'єм культуральної рідини або розчину, не змінюючи при цьому хімічного складу та структури продукту. Це особливо важливо при роботі з біологічно активними речовинами, які можуть бути чутливими до високих температур або агресивних хімічних агентів (Карлаш та ін.,2022; Zydney,202; Fragoneni та ін.,2015; Huang та ін.,2015).

Згідно статті (Golneshin та ін.,2020), концентрування проводили ультрафільтраційним методом з використанням поліетилсульфонової мембрани з розміром пор 10 кДа. Тому варто використовувати ПЕС мембрану із вказаним розміром пор.

Пентоцин ZFM94 в кінцевій формі буде у вигляді сухого концентрату. В такій формі бактеріоцин буде більш стабільним при зберіганні та транспортуванні, порівняно з рідкою формою, оскільки буде відсутня взаємодія з розчинником завдяки зниженій кількості вологи.

3.1.5. Пакування, маркування, відвантаження

Концентрат бактеріоцину фасують у герметичні пакети по 100 г на автоматичному фасувальному обладнанні.

Пакети поміщають у вторинну упаковку, що представлена картонними коробками, та наносять етикетку, що містить наступну інформацію: назва продукту, склад (активна сполука пентоцин ZFM94), партія, дата виготовлення, термін придатності, маса, умови зберігання, виробник, попереджувальні знаки. Коробки із субстанцією бактеріоцину відвантажують на склад.

3.2. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях

Вихідні дані:

- об'єм культуральної рідини з однієї ферментації - $V_{кр} = 8\ 656$ л;
- концентрація продукту (пентоцину ZFM94) у КР $C_{пр} = 0,00365$ г/л ($0,00365$ кг/м³);
- концентрація біомаси у КР $C_{БМ} = 3,76$ г/л ($= 3,76$ кг/м³) – АСБ (Chen та ін.,2025);
- згідно розділу 1, втрати на стадіях виділення та очищення бактеріоцину становлять 20%;

- початкова кількість цільового продукту, яка поступає з КР з однієї ферментації становить 0,031 кг, тоді кінцева кількість, беручи до уваги 20% втрат, складатиме 0,025 кг.

Розподіл втрат по стадіях отримання субстанції бактеріоцину та підбір відповідного обладнання наведено в *таблиці 3.1*.

Таблиця 3.1

Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях

Назва стадії (операції)	Матеріальні потоки на стадії	Кількість по стадіях			Необхідне обладнання
		Надійшло	Втрати, (Разом 20%)	Вийшло	
2	3	4	5	6	7
Етапи виробництва субстанції бактеріоцину					
Відділення клітин продуцента					
Центрифугування культуральної рідини	Культуральна рідина	8 656 л	-	-	Збірник 10 м ³
	Біомаса	-	-	32,5 кг (8 656 × 3,76) - АСБ, враховуючи 90% вологості 284 кг	Технічна ємність. Надходить на інші процеси виробництва пробіотиків.
	Супернатант	8 623,5	431,1 л (5%)	8 192,4 л	Промислова центрифуга. Збірник 10 м ³
Очищення та концентрування					
Ультрафільтрація супернатанту	Супернатант	8 192,4 л	-	-	Ультрафільтраційна установка

Закінчення таблиці 3.1

	Концентрат	819,2 л	40,9 л (5%)	778,3 л	- (подається відразу на осадження)
	Пермеат	-	-	7 373,2 л (8 192,4- 819,2)	- (на знешкодження)
Осадження					
Осадження насиченим сульфатом амонію	Концентрат	778,3 л	-	-	Збірник 1500 л
	Насичений сульфат амонію	379,5 кг	-	-	
	Суміш	1 157,8 л (778,3 + 379,5)	57,9 л (5%)	1 099,9 л	- (на відділення осаду)
Знесолення та концентрування					
Ультрафільтрація	Суміш	1 099,9 л	-	-	Ультрафільтраційна установка
	Концентрат пентоцину	0,0262 кг	0,001 кг (5%)	0,025 кг	Направляється на пакування, маркування, відвантаження
	Пермеат	-	-	1 099,8 л	- (на знешкодження)

3.3. Специфікація обладнання для виробництва пентоцину ZFM94

Таблиця 3.2

Специфікація обладнання

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика
1	2	3	4
3-1	Збірник 10 м ³	1	<p>Реактор з нержавіючої сталі 304 об'ємом 10000 л. Внутрішній діаметр приблизно 1900 мм, висота прямої частини 3000 мм. Має зварені сферичні верхню і нижню кришки. Внутрішній розрахунковий робочий тиск 15 бар при 100°C. Має кожух із вуглецевої сталі з розрахунковим робочим тиском 4,5 бар при 155°C. Обладнаний триступеневою лопастною мішалкою з нахилом.</p> <p>Компанія: «Perry Equipment» (США).</p>
Н-2 Н-6	Насос	2	<p>Відцентровий насос QHS-100-7.5. Матеріал - нержавіюча сталь AISI 304. Продуктивність – 60 м³/год. Висота подачі 20 м. Тип установки – горизонтальний.</p> <p>Компанія: «Qeehua» (Китай)</p>
Ц-3	Центрифуга	1	<p>Автоматична промислова центрифуга для відділення клітин DHC550. Тип – безперервний горизонтальний. Продуктивність 10000 л/год.</p> <p>Компанія: «Bailun Biotechnology Co., Ltd» (Китай).</p>
УФУ-4 УФУ-7	Ультрафільтраційна установка	2	<p>Ультрафільтраційна установка моделі СК-UF-30ТРН. Продуктивність 30 м³/год.</p> <p>Компанія: «Guangzhou Chunke Environmental Technology Co., Ltd.» (Китай).</p>
3-5	Збірник 1500 л	1	<p>Реактор РСГП-1500 ВК. Робочий об'єм 1500 л. Матеріал - сталь AISI 316L, сталь AISI 304, фторопласт-4, силікон. Габаритні розміри: L = 2300 мм; В = 2100 мм; Н = 2900 мм. Встановлена мішалка.</p> <p>Компанія: «Промвіт» (Україна).</p>

РОЗДІЛ 4. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИРОБНИЦТВА ПЕНТОЦИНУ ZFM94

Технологічна схема отримання пентоцину ZFM94 передбачає такі етапи: центрифугування культуральної рідини, ультрафільтрація супернатанту, осадження насиченим сульфатом амонію, знесолення та концентрування ультрафільтрацією, а також пакування, маркування, відвантаження.

ТП 1. Відділення клітин продуцента

ТП 1.1. Центрифугування культуральної рідини

Після виробничого культивування культуральну рідину перекачують на зберігання у збірнику З-1. З цього збірника культуральну рідину перекачують відцентровим насосом Н-2 до центрифуги Ц-3. Культуральну рідину після культивування біологічного агента піддають центрифугуванню в режимі 5000 об/хв за температури 4°C протягом 20 хвилин.

Далі супернатант надходить до ультрафільтраційної установки УФУ-4. Біомасу вивантажують та поміщають в технічну ємність, після чого її направляють на інші процеси виробництва пробіотиків.

ТП 2. Очищення та концентрування

ТП 2.1. Ультрафільтрація супернатанту

Супернатант від ТП 1.1 подають до ультрафільтраційної установки УФУ-4. Супернатант концентрують методом ультрафільтрації з використанням полієфірсульфонової (ПЕС) мембрани з розміром пор 10 кДа. Концентрат надходить до стадії ТП 3.1, пермеат направляють на знешкодження.

ТП 3. Осадження

ТП 3.1. Осадження насиченим сульфатом амонію

До збірника З-5 вносять концентрат від ТП 2.1 та насичений сульфат амонію в градієнті концентрації від 10 до 90%. Загальна кількість насиченого сульфату амонію становить 379,5 кг. Режим перемішування становить 100-200 об/хв. Приготована

					НУХТ БТЕК 02.01.16 КР ПЗ				
Зм.	Арк.	№ докум	Підпис	Дата					
Розроб.		Борова М.О.			Літера	Аркуш	Аркушів		
Перевір.		Старовойтова				48	818		
Консульт.					Кафедра БТМ				
Н. контр.				РОЗДІЛ 4. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИРОБНИЦТВА					
Зав.кафедр.		Стабніков В.П.							

суміш за допомогою відцентрового насосу Н-6 надходить на відділення осаду, що утворився.

ТП 4. Знесолення та концентрування

ТП 4.1. Ультрафільтрація

Від *ТП 3.1* суміш перекачують відцентровим насосом Н-6 до ультрафільтраційної установки УФУ-7. Суміш концентрують методом ультрафільтрації з використанням полієфірсульфонової (ПЕС) мембрани з розміром пор 10 кДа. Концентрат пентоцину ZFM94 надходить до стадії *ПМВ 5.1*, пермеат направляють на знешкодження.

ПМВ 5. Пакування

ПМВ 5.1. Пакування, маркування, відвантаження

Концентрат пентоцину ZFM94 фасують на автоматичному фасувальному обладнанні у герметичні пакети. Пакети поміщають у вторинну групову упаковку, що представлена картонними коробками, та наносять маркування. Коробки із концентратом пентоцину ZFM94 відвантажують на склад.

РОЗДІЛ 5. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА ПЕНТОЦИНУ ZFM94

Опис

Порошок від блідо-коричневого до білого кольору. Визначають візуально [39].

Молекулярна маса

Молекулярна маса очищеного бактеріоцину штаму *Lactobacillus pentosus* ZFM94 становить 3547,74 Да (Goel та ін., 2020).

Наважку бактеріоцину розчиняють у 50 мМ фосфатно-сольовому буфері (рН 3,69). Розчин вводять в систему обернено-фазової рідинної хроматографії (RP-HPLC, Waters, США), оснащену колонкою RP C18 (YMC-Pack ODS-AQ, 150 × 20 мм LD). Буфер А являє собою 0,05% трифтороцтову кислоту/дистильовану воду (об./об.), а буфер В являє собою 0,05% /ацетонітрил (об./об.). Градієнтне елюювання коливається від 95% буфера А до 95% буфера В, зі швидкістю потоку 4,0 мл/хв. Фракції з антибактеріальною активністю аналізують за допомогою аналітичної системи RP-HPLC (Waters 2489 Detector, США) з використанням колонки RP C18 (YMC-Pack ODS-AQ, 150 × 4,6 мм LD, Японія) після видалення ацетонітрилу випаровуванням.

Молекулярну масу фракції бактеріоцину з антибактеріальною активністю, отриманої за допомогою RP-HPLC, аналізують за допомогою електрофорезу в поліакриламідному гелі з додецилсульфатом трицину-натрій (SDS-PAGE) (5% концентрованого гелю та 18% розділювального гелю). Антибактеріальну активність та маркер низької молекулярної маси визначають при 80 В протягом 30 хвилин та при 120 В протягом наступного часу розділення.

Після завершення циклу гель забарвлюють діамантовим блакитним Кумасі G-250 та знебарвлюють розчином етилового спирту та оцтової кислоти. Для визначення точної молекулярної маси цього зразка додатково використовують мас-спектрометричний комплекс з лазерною десорбцією/іонізацією (MALDI-TOF MS) (ABSciex 5800), що працює в режимі позитивних іонів. Як матрицю використовують розчин α -ціано-4-гідроксикоричної кислоти. Відбирають 1 мкл зразка, висушують на

					НУХТ БТЕК 02.01.16 КР ПЗ			
Зм.	Арк.	№ докум	Підпис	Дата				
Розроб.		Борова М.О.			РОЗДІЛ 5. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА	Літера	Аркуш	Аркушів
Перевір.		Старовойтова					50	830
Консульт.						Кафедра БТМ		
Н. контр.								
Зав.кафедр.		Стабніков В.П.						

повітрі на пластині для зразків, після природного висихання додають 0,6 мкл α -ціано-4-гідроксикоричної кислоти для проведення MALDI-аналізу (Goel та ін., 2020).

Антибактеріальний спектр та мінімальні інгібуючі концентрації (МІК) пентоцину ZFM94

1) Антибактеріальний спектр пентоцину ZFM94 після очищення визначають методом дифузії в агарових лунках середовища Лурія-Бертані та картопляно-декстрозного агару, відповідно до типу тест-культури. Кожне середовище інокують 10^6 колонієутворюючих одиниць (КУО)/мл кожного індикаторного штаму (*Staphylococcus carnosus* pCA44, *Staphylococcus carnosus* pot20, *Listeria monocytogenes* LM1, *Bacillus subtilis* BAS2, *Salmonella paratyphi-A* CMCC50093, *Salmonella paratyphi-B* CMCC50094, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ATCC14028, *Saccharomyces cerevisiae* SM190) та добре перемішують, формують лунки діаметром 8 мм в планшетах. Кожну лунку заповнюють 100 мкл 10 мкМ розчину пентоцину ZFM94. Проводять інкубування планшетів протягом ночі при 37°C. Вимірюють діаметр зон інгібування росту тест-культур навколо лунок, результат виражають в мм (Goel та ін., 2020; Gaspar та ін., 2018).

2) Визначають мінімальну інгібуючу концентрацію бактеріоцину. Використовують наступні тест-культури: *Staphylococcus aureus* D48, *Micrococcus luteus* 10209 та *Escherichia coli* DH5 α . Готують розведення бактеріоцину в градієнті концентрацій - 0, 0,10, 0,20, 0,50, 0,875, 1,75, 2,00, 2,50, 3,00 та 10,00 мкМ (Goel та ін., 2020).

Мікропланшети, завантажені двократними серійними розведеннями бактеріоцину, засівають логарифмною культурою цільового штаму, розведеною в тому ж середовищі для культивування (приблизно 1×10^6 КУО на лунку). Потім мікропланшети інкубували при 37 °C протягом 18 годин.

Вимірюють значення абсорбції при довжині хвилі 595 нм щогодини за допомогою ультрафіолетового спектрофотометра (OLYMPUS, Японія). Кожне вимірювання проводять тричі. Значення МІК виражають в нМ і ці значення відповідають найнижчим концентраціям, що викликали інгібування росту цільових тест-культур через 18 годин (Goel та ін., 2020; Bédard та ін., 2018).

Стабільність пентоцину ZFM94

Відбирають наважку очищеного пентоцину ZFM94 та готують розведення концентрацією 15 мкг/л для визначення впливу температур, рН та ферментів на стабільність цільового бактеріоцину (Goel та ін., 2020).

1) Для визначення термостабільності очищених пентоцинів ZFM94 нагрівають до 50, 60, 70, 80, 90, 100 та 121°C протягом 30 хвилин відповідно, а потім охолоджують до кімнатної температури.

2) Для оцінки чутливості пентоцину ZFM94 до різних значень рН, рН очищеного пептидного розчину бактеріоцину доводять до 2–10 за допомогою 1 М хлоридної кислоти (HCl) та 1 М гідроксиду натрію (NaOH) відповідно. Вищезазначені зразки потім інкубують при температурі 4°C протягом 2 годин та доводять значення рН до початкового рН 3,69.

3) Для дослідження впливу ферментів на активність бактеріоцину його обробляють лізоцимом, рибонуклеазою А, ліпазою, папаїном, α -амілазою, α -хімотрипсином, пепсином та трипсином відповідно у кінцевій концентрації 1 мг/мл за оптимальної температури та рН кожного ферменту протягом 2 годин. Потім рН доводять до початкового значення рН 3,69.

Необроблений зразок розчину бактеріоцину використовують як контроль. Розраховують активність залишкових антитіл до *M. luteus* 10209 за допомогою методу дифузії в агарових лунках (Goel та ін., 2020).

Пентоцин ZFM94 проявляє термостабільність при нагріванні протягом 30 хв за температури 80°C та антимікробну активність у широкому діапазоні рН (5,00-7,00) (Goel та ін., 2020).

РОЗДІЛ 6. ТЕХНОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ОТРИМАННЯ ПЛІВКИ З ПЕНТОЦИНОМ ZFM94

6.1. Обґрунтування вибору форми та упаковки

Зростаючий споживчий попит на безпечні та екологічні пакувальні матеріали призвів до значних досліджень бактеріоцинів як потужних антимікробних пептидів, що можуть входити до складу упаковки для харчових продуктів. Для забезпечення пакувальним матеріалом обрано харчову промисловість, а саме ковбасні вироби [1].

Антимікробна упаковка – це форма активної упаковки, яка може подовжити термін придатності продукту, забезпечуючи споживачам мікробіологічну безпеку. такий пакувальний матеріал забезпечує зменшення, пригнічення або затримку росту патогенних мікроорганізмів в упакованих харчових продуктах та пакувальних матеріалах загалом. Для боротьби з патогенними мікроорганізмами на поверхнях харчових продуктів до полімерів можна додавати леткі та нелеткі антимікробні речовини, або ж на полімерних поверхнях можна використовувати покриття чи адсорбуючий антимікробний агент. Таке покриття можна наносити як носій для антимікробних сполук або антиоксидантів для підтримки високих концентрацій консервантів на поверхнях харчових продуктів.

Бактеріоцини у формі очищеного екстракту можна наносити на поверхню пакувального полімеру. Імобілізація сполук на носії, розміщеному всередині упаковки, може бути особливо ефективною та економічнішою, дозволяючи контрольоване вивільнення речовини та зменшення використовуваної кількості, а отже, зниження вартості. Таким чином, знижується ризик взаємодії бактеріоцину з харчовими інгредієнтами або інактивації протеолітичних ферментів. Різні матеріали, включаючи біорозкладні та їстівні матеріали, розглядалися як потенційні носії для бактеріоцинів або бактерій, що їх виробляють; до них належать діоксид кремнію, кукурудзяний крохмаль, соєвий білок, желатин, альгінат кальцію, поліетилен та целюлоза (Gumienna та ін.,2021).

					НУХТ БТЕК 02.01.16 КР ПЗ			
<i>Зм.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		<i>Борова М.О.</i>			РОЗДІЛ 6. ТЕХНОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ОТРИМАННЯ	<i>Літера</i>	<i>Аркуш</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>		<i>Старовойтова</i>					53	833
<i>Консульт.</i>						Кафедра БТМ		
<i>Н. контр.</i>								
<i>Зав.кафедр.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>						

У статті (Woraprayote та ін.,2015) вказано, що для приготування часток тирси деревна тирса була оброблена на ріжучому млині для отримання частинок в діапазоні 100-300 мкм і висушена при 70 °С протягом 24 годин. Висушена тирса була розмішана з абсолютним етанолом при кімнатній температурі протягом 1 години для видалення домішок з поверхні тирси. Оброблена тирса була висушена при 70 °С протягом 3 годин для випаровування розчинника, а потім замочена в 10% гідроксиді натрію при 40 °С протягом 3 годин для видалення природних домішок, включаючи пектин, лігнін, воскові речовини та натуральні олії. Нарешті, оброблена тирса була промита дистильованою водою для видалення гідроксиду натрію і висушені при 60 °С протягом 24 годин. Отриманий порошок був названий частинками тирси та позначений SP.

Біокомпозитна плівка PLA/SP (виготовлена з полімолочної кислоти (PLA) та часток тирси (SP) була виготовлена методом екструзії з роздуванням. Спочатку 5% (за масою) тирси змішували з PLA-смолою, використовуючи оброблену тирсу, і піддавали обробці у двошнековому екструдері. Товщину плівки регулювали до 400-500 мкм, регулюючи швидкість намотування.

Біокомпозитна плівка PLA/SP були попередньо оброблена трьома методами, включаючи обробку сухим теплом (нагрівання зразків плівки при 90 °С протягом 2 годин у печі з циркуляцією повітря), обробку сухим теплом з подальшою кислотною обробкою (замочування в 2% оцтовій кислоті протягом 30 хв) та обробку вологим теплом (нагрівання зразків плівки при 90°C, 90% відносної вологості протягом 2 годин) (Woraprayote та ін.,2015).

Частково очищений бактеріоцин завантажували на попередньо оброблені плівки методом дифузійного покриття. Вісім зразків плівки ($2 \times 2 \text{ cm}^2$) замочували в склянці, що містила 5 мл 0,2% (мас./об.) частково очищеного розчину педіоцину, протягом 30 хв при кімнатній температурі. Після адсорбції педіоцину на поверхні плівки витягали з розчину педіоцину і тричі промивали 5 мл деіонізованої води, струшуючи розчин з плівки протягом 1 хвилини кожен раз для видалення неадсорбованого педіоцину. Промиті плівки сушили в ламінарному потоці протягом

30-60 хвилин і зберігали при температурі 4 ± 2 °C у холодильнику (Woraprayote та ін.,2015).

Отже, принципова схема отримання плівки з бактеріоцином буде складатись з таких стадій (Woraprayote та ін.,2015):

- 1) Приготування 0,2% розчину пентоцину ZFM94;
- 2) Замочування попередньо підготованої біокомпозитної плівки PLA/SP у розчині пентоцину ZFM94 протягом 30 хв при кімнатній температурі;
- 3) Видалення плівки з розчину пентоцину ZFM94 та трикратне промивання деіонізованою водою;
- 4) Струшування плівки протягом 1 хвилини кожен раз для видалення неадсорбованого пентоцину ZFM94;
- 5) Висушування промитих плівок в ламінарному потоці протягом 30-60 хвилин;
- 6) Пакування у транспортувальну упаковку;
- 7) Зберігання при температурі 4 ± 2 °C.

Термозбіжна плівка — це тип плівки, яка при нагріванні стискається і приймає форму упакованого виробу. Вона широко застосовується у пакувальній промисловості для захисту та збереження продукції. Така плівка використовується для пакування харчових продуктів, зокрема кондитерських виробів, м'яса, напівфабрикатів, молочних продуктів, напоїв, пляшок і банок. Крім того, термозбіжну плівку застосовують для упаковки непродовольчих товарів: паперової продукції, виробів металообробної, легкої та радіоелектронної промисловості, а також хімічних, парфумерних виробів і будівельних матеріалів.

Основними перевагами термозбіжної плівки є:

- Висока прозорість і блиск, що робить товар більш привабливим.
- Відповідність санітарно-гігієнічним нормам.
- Подовження терміну зберігання продукції.
- Захист від зовнішніх впливів, таких як волога, пил та механічні пошкодження.
- Запобігання несанкціонованому розкриттю упаковки.

Таким чином, виготовлену антимікробну плівку, просочену розчином пентоцину ZFM94, будемо пакувати у термозбіжну плівку для зберігання та транспортування.

6.2. Обґрунтування технологічних особливостей отримання плівки з пентоцином ZFM94

Технологія отримання плівки з пентоцином ZFM94 буде починатись з приготування 0,2% розчину пентоцину ZFM94. Дана допоміжна стадія необхідна для забезпечення потрібної концентрації та відповідної антимікробної активності кінцевого пакувального матеріалу. Будемо готувати розчин пентоцину ZFM94 в очищеній воді у реакторі.

Потім слід провести замочування біокомпозитної плівки PLA/SP у підготованому розчині пентоцину ZFM94. Замочування дозволяє досягнути максимального просочення плівки по всьому її об'єму. Тому будемо проводити замочування протягом 30 хв при кімнатній температурі.

Після просочення плівки її виймають з розчину пентоцину ZFM94. Проводять трикратне промивання деіонізованою водою. Це необхідно для видалення супутніх домішок та неадсорбованого пентоцину ZFM94.

За промиванням слідує стадія струшування плівки. Струшування в лабораторних умовах проводили протягом 1 хвилини кожен раз для видалення неадсорбованого пентоцину ZFM94 та деіонізованої води. У виробничих умовах струшування можна провести шляхом центрифугування. Даний метод дозволить ефективно та швидко відділити зайву вологу та неадсорбований пентоцин ZFM94.

Для того, щоб остаточно видалити вологу та забезпечити її товарний вигляд, слід висушити плівку. Отже, промиту плівку сушать протягом 30-60 хвилин. Після цього плівку в автоматичному режимі згортають та пакують у транспортувальну упаковку – термозбіжну плівку. Такий матеріал дозволяє забезпечити безпечно зберігання та транспортування плівки з пентоцином ZFM94. Готовий продукт зберігають за температури 4 ± 2 °C на складі перед реалізацією для забезпечення її основних антимікробних властивостей.

6.3. Матеріальний розрахунок на серію виробництва плівки з пентоцином ZFM94

Річна потужність біосинтезу пентоцину ZFM94 становить 7 кг.

Якщо для отримання 7 кг пентоцину потрібно 2 397 260 л культуральної рідини, то за 1 цикл виробництва з 8 656 л отримуємо 0,025 кг.

Для виробництва 23 346 м² плівки потрібно 7 кг пентоцину ZFM94, тоді з 0,025 кг отримаємо стільки плівки:

$$(0,025 \times 23\,346) / 7 = 83,3 \text{ м}^2 \text{ плівки.}$$

Кількість виробничих циклів на рік складає

$$2\,397\,260 / 8\,656 = 276.$$

Тоді кількість виробленої плівки з пентоцином ZFM94 за рік становить:

$$83,3 \times 276 = 22\,990,8 \text{ м}^2$$

Розрахуємо, яка приблизно може бути серія плівки.

Маса: 100 кг

Товщина: 50 мкм = 0,00005 м

Густина: 920 кг/м³

$$\text{Площа} = \frac{100}{920 \times 0,00005} = \frac{100}{0,046} \approx 2173,9 \text{ м}^2$$

Серія 100 кг плівки товщиною 50 мкм становить близько 2174 м².

Тоді кількість серій на рік буде дорівнювати:

$$22\,990,8 / 2174 \approx 10 \text{ серій}$$

Якщо серія становить 100 кг, то приймемо, що будемо готувати 200 л 0,2% розчину пентоцину ZFM94. Для приготування 200 л розчину потрібно пентоцину:

$$(200 \times 0,2) / 100 = 0,4 \text{ кг} = 400 \text{ г пентоцину ZFM94}$$

та близько 200 л води очищеної.

6.4. Специфікація обладнання

Таблиця 6.1

Специфікація обладнання для виробництва плівки з пентоцином ZFM94

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика
1	2	3	4
В-1	Ваги технічні	1	Ваги лабораторні ТВЕ-1-0.01-а, дискретність 0,01 г. Вага від 0,5 до 1000 грам, 2 класу точності. Платформа з нержавіючої сталі. Зовнішнє градування - необхідна гиря еталонна F2 1 кг.Компанія: «ТОВ Лабімпекс ЛТД» (Україна)
3-2 3-3	Збірник 419 л	2	Збірник повним об'ємом 419 л та робочим об'ємом 350 л. Являє собою мобільну цільнозварну конструкцію з люком. Оснащений мийною головкою, загрузочним люком Dn 400 та дихальним клапаном та 2-ма резервними патрубками. Матеріали - сталь AISI 316 L, сталь AISI 304, силікон, вітон. Габаритні розміри: довжина 1065 мм, ширина 796 мм, висота 1571 мм. Компанія: «Промвіт» (Україна)
Ц-4	Центрифуга	1	Для механічного сушіння подрібненої фракції полімерних відходів ПП, ПЕ, ПЕНД, ПЕВД, ПЕТ, плівки, тканих мішків після очищення та промивання. На валу встановлені лопаті, при обертанні яких створюється відцентрова сила, що виштовхує воду через отвори перфорації, сировина висушується і просувається до вивантажувального вікна.Швидкість валу 2060 об/хв. Продуктивність (залежить від переробного матеріалу) ПП – до 300 кг/год; ПЕ – до 500 кг/год; ПЕТ та дроблянка – до 1000кг/год. Компанія: «STANKIPLAST» (Україна)

C-5	Сушарка	1	Високошвидкісна сушильна машина для виробництва плівки. Швидкість обертання 1450-1800 об/хв. Продуктивність висушування плівки 0,8 т/год. Ступінь зневоднення плівки – 85%. Компанія: «Hubei Ruili Environmental Machinery CO.,LTD» (Китай)
ПМ-6	Пакувальна машина	1	Термотунель з напівавтоматичним 2-х рулонним пневматичним запайником ТТ-15-ПАП. Напівавтоматична видувна машина, яка складається з механічного 2-х рулонного зварювача і термоусадочного тунелю. Дана модель призначена для упаковки термозбіжною плівкою різної продукції. Продуктивність (максимальна) – 400 уп/год. Компанія: «Пакувальні технології» (Україна)

6.5. Опис технологічної схеми виробництва плівки з пентоцином ZFM94

ДР 1. Приготування розчину пентоцину

ДР 1.1. Приготування 0,2% розчину пентоцину ZFM94

Зі складу отримують субстанцію пентоцину ZFM94. На технічних вагах В-1 зважують 400 г пентоцину ZFM94. Переносять наважку до збірника 3-2. По трубопроводу подають близько 200 л води очищеної, об'єм води контролюють лічильником. Вмикають перемішуючий пристрій та перемішують при 50-100 об/хв протягом 10 хв для розчинення пентоцину.

Приготований розчин надходить на стадію виробництва плівки.

ТП 2. Виробництво плівки

ТП 2.1. Замочування плівки

До збірника 3-2 з приготованим розчином пентоцину ZFM94 поміщають біокомпозитну плівку PLA/SP. Плівку вручну повністю занурюють у розчин. Проводять замочування протягом 30 хв при кімнатній температурі.

ТП 2.2. Промивання плівки

Після замочування потрібно позбавити плівку супутніх домішок та неадсорбованого пентоцину ZFM94. Для цього зі збірника 3-2 вручну виймають плівку, просочену розчином пентоцину ZFM94 (від ТП 2.1). Поміщають у збірник 3-3 аналогічного об'єму. Проводять промивання деіонізованою водою шляхом наповнення збірника 3-3 та наступного зливання води. Промивання проводять тричі.

ТП 2.3. Струшування плівки

Після промивання проводять струшування плівки для видалення неадсорбованого пентоцину ZFM94 та деіонізованої води. Для цього плівку поміщають до промислової центрифуги Ц-4. Проводять центрифугування при швидкості обертання 2060 об/хв протягом 20 хв.

ТП 2.4. Висушування плівки

З центрифуги Ц-4 вивантажують плівку (від ТП 2.3) та подають до сушарки С-5. Швидкість обертання 1450-1800 об/хв, тривалість сушіння 30-60 хв.

Після цього висушену плівку вивантажують, охолоджують при кімнатній температурі та направляють на пакування до ПМВ 3.1.

ПМВ 3. Пакування, маркування, відвантаження

ПМВ 3.1. Пакування плівки

Отримують висушену плівку від ТП 2.4. Плівку подають на пакувальну машину ПМ-6, де її в автоматичному режимі згортають та пакують у транспортувальну упаковку – термозбіжну плівку. Наносять етикетку, що містить такі дані: назву та тип матеріалу, його основні технічні характеристики (товщина, розміри, температура й відсоток усадки), призначення та можливість контакту з харчовими продуктами; дані виробника, номер партії й дату виготовлення, позначення щодо перероблення та умови зберігання й використання.

ПМВ 3.2. Відвантаження та зберігання

Запаковану та промарковану плівку відвантажують на склад. Плівку зберігають за температури 4 ± 2 °C на складі перед реалізацією для забезпечення її основних антимікробних властивостей.

**РОЗДІЛ 7. МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ВИРОБНИЦТВА ПЛІВКИ З
ПЕНТОЦИНОМ ZFM94**

Таблиця 7.1

Показники якості плівки з пентоцином ZFM94

Показник	Значення
Зовнішній вигляд	Плівка від світло-коричневого до коричневого кольору, непрозора, місцями присутні незначні крапління
Товщина плівки	Від 400 до 500 мкм
Міцність на розтягнення та видовження при розриві	Міцність плівки на розтягнення становить 7–10 МПа. Видовження при розриві становить приблизно 4–5%.
Розчинність плівки у воді	Від 1,61 до 2,01%
Прозорість плівки	Від 4,31 до 4,55 %
Біологічна активність плівки з антимікробним покриттям проти <i>Listeria monocytogenes</i>	Ступінь пригнічення патогену становить 99% протягом 14 днів зберігання
Пакування	Пакування представлене термозбіжною плівкою. Плівка повинна щільно прикривати всю поверхню готового продукту.
Маркування	Назва фунгіциду та його препаративна форма; назва діючої речовини фунгіциду та її вміст; виробник; класифікація і токсичність; реєстраційний номер і серія фунгіциду у Державному реєстрі; форма пакування; дата виготовлення; гарантійний термін зберігання; сумісність з іншими пестицидами / агрохімікатами; порядок приготування робочого розчину до застосування; регламент застосування; умови та заходи безпеки під час роботи, транспортування і зберігання.
Термін придатності та умови зберігання	Термін придатності становить 24 місяці. Зберігати за температури від 4 ± 2 °С.

					НУХТ БТЕК 02.01.16 КР ПЗ		
Зм.	Арк.	№ докум	Підпис	Дата			
Розроб.		Борова М.О.			Літера	Аркуш	Аркушів
Перевір.		Старовойтова				62	82
Консульт.					Кафедра БТМ		
Н. контр.							
Зав.кафедр.		Стабніков В.П.					
					РОЗДІЛ 7. МЕТОДИ КОНТРОЛЮ		

Методи контролю

Зовнішній вигляд

Оцінюють візуально. Плівка від світло-коричневого до коричневого кольору, непрозора, місцями присутні незначні вкраплення (Woraprayote та ін.,2015).

Товщина плівки

Товщину зразка плівки вимірюють товщиноміром з точністю до 0,0001 мм у п'яти випадкових місцях на плівках. Середню товщину оцінюють та використовують для розрахунку міцності на розтягнення та прозорості плівки (Woraprayote та ін.,2015).

Міцність на розтягнення та видовження при розриві

Для визначення міцності на розтягнення та видовження при розриві використовують універсальну випробувальну машину. Відбирають п'ять зразків плівки розміром 10×10 мм². Початкове відокремлення захвату та швидкість руху траверси встановлюють на рівні 10 мм та 10 мм/хв відповідно. Значення міцності на розрив розраховують шляхом ділення максимального напруження на площу поперечного перерізу зразка, а значення видовження виражають у відсотках, при цьому співвідношення розширеної довжини в точці розриву виражають початковою довжиною (Woraprayote та ін.,2015).

Розчинність плівки у воді

Розчинність плівки у воді визначають як відсоток сухої речовини зразка, розчиненої після 24-годинного занурення в дистильовану воду при рН 6. Зразки плівки розміром 2×2 см² сушать в печі з циркуляцією повітря при температурі 105 °С протягом 24 годин та зважують для визначення початкової сухої маси (60–90 мг/шт.). Плівки занурюють в пробірку з гвинтовою кришкою об'ємом 50 мл, що містить 30 мл дистильованої води з 0,02% азиду натрію для запобігання росту мікроорганізмів. Після 24 годин зберігання на водяній бані зі струшуванням при температурі 25 ± 2 °С зразки виймають, обережно промивають дистильованою водою та сушать в печі при 105 °С протягом 24 годин, щоб визначити масу сухої речовини, не розчиненої у воді.

Для кожної обробки проводять три вимірювання. Розчинність плівки розраховують за початковою сухою масою та кінцевою сухою масою за допомогою наступного рівняння:

$$\text{Розчинність плівки (\%)} = ((W_1 - W_2) / W_1) \times 100,$$

де W_1 та W_2 представляють масу плівки до та після випробування на розчинність відповідно (Woraprayote та ін.,2015).

Прозорість плівки

Прозорість плівки визначають за допомогою УФ/Візуального спектрофотометра. Зразки плівки нарізають на прямокутники та розміщують на внутрішній стороні комірки спектрофотометра. Відсоток пропускання (%П) визначають на довжині хвилі 600 нм, а прозорість розраховують за наступним рівнянням:

$$\text{Прозорість} = [\text{Log \%T}] / x,$$

де x – товщина плівки (мм) (Woraprayote та ін.,2015).

Біологічна активність плівки з антимікробним покриттям проти *Listeria monocytogenes*

Антимікробну ефективність покритих біокомпозитних плівок PLA/SP оцінюють з використанням сиров'язної свинини. Зрізи свинячої вирізки розміром $5 \times 5 \text{ см}^2$ стерилізують УФ-випромінюванням під біологічно безпечним витяжним ковпаком протягом 15 хвилин. Стерилізовані зрізи м'яса інокують 250 мкл нічної культури *L. monocytogenes* ATCC19115 для отримання кінцевої щільності бактерій на поверхні м'яса 10^4 КУО/см^2 (Woraprayote та ін.,2015).

Інокульовані зразки свинини упаковують в досліджувану плівку, поміщають на лоток і зберігають при температурі $4 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. Зразки, упаковані плівкою без просочення пентоцином ZFM94, та неупаковані зразки м'яса використовують як негативний контроль.

Після 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 та 14 днів зберігання проводять селективний підрахунок життєздатних клітин. Для аналізу зразки поміщають у стерильні поліетиленові пакети, додають 10 мл стерильного 0,1% (мас./об.) розчину пептону, а потім зразки гомогенізують протягом 1 хвилини у блендері.

Для забезпечення росту *L. monocytogenes* використовують агар PALCAM (Merck) із селективною добавкою *L. monocytogenes*. Кожен планшет інкубують при 37 °С протягом 48 годин, після чого підраховують колонії. Експеримент проводять у трьох повторностях, а результати виражають у вигляді КУО/см² (Woraprayote та ін.,2015).

Пакування

Пакування представлене термозбіжною плівкою. Плівка повинна щільно прикривати всю поверхню готового продукту.

Маркування

На плівку наносять етикетку, що містить такі дані: назву та тип матеріалу, його основні технічні характеристики (товщина, розміри, температура й відсоток усадки), призначення та можливість контакту з харчовими продуктами; дані виробника, номер партії й дату виготовлення, позначення щодо перероблення та умови зберігання й використання.

Термін придатності та умови зберігання

Термін придатності становить 24 місяці.

Зберігати за температури від 4 ± 2 °С.

РОЗДІЛ. 8. ПРОЄКТ ЗАЯВКИ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ ОДЕРЖАННЯ БІОАКТИВНОГО ПАКУВАЛЬНОГО МАТЕРІАЛУ

8.1. Галузь застосування корисної моделі

Винахід належить до харчової біотехнології, зокрема до розробки пакувального матеріалу, що містить антимікробні сполуки у своєму складі з метою забезпечення тривалішого терміну зберігання та безпечності продукції. Запропонована корисна модель стосується створення біоактивної пакувальної плівки з нанесенням покриття з бактеріоцином, що буде чинити антимікробну дію проти граммпозитивних та грамнегативних бактерій.

Дану упаковку визначають як систему, що модифікує середовище всередині пакування харчової продукції, змінюючи стан упакованої харчової системи для покращення якості шляхом подовження терміну придатності, покращення сенсорних властивостей та підтримки мікробіологічної безпеки. Може використовуватись як в промислових так і в побутових масштабах для зручності зберігання їжі, призначеної для швидкого приготування і споживання м'ясної, сирної продукції. Корисна модель може бути впроваджена з метою зменшення витрат та відходів харчових продуктів, що становлять приблизно 24 % усієї їжі, що виробляється (Kotykova та ін.,2020).

Біоактивна пакувальна плівка запобігає росту мікроорганізмів на поверхні харчових продуктів шляхом безпосереднього контакту упаковки з поверхнею харчових продуктів, таких як м'ясо, сир, овочі, фрукти та кондитерські вироби. Вона подовжує термін зберігання продукції та зменшує швидкість росту патогенних бактерій, такі як *Listeria monocytogenes* і *Staphylococcus aureus*, що призводять до псування.

8.2. Відомі аналоги та їх основні недоліки

Найбільш відомим методом консервування харчових продуктів є додавання консервантів безпосередньо до складу харчової продукції. Розповсюдженими є консерванти хімічного походження (сорбат калію, бензоат натрію, пропіонат кальцію

					НУХТ БТЕК 02.01.16 КР ПЗ			
Зм.	Арк.	№ докум	Підпис	Дата	РОЗДІЛ. 8. ПРОЄКТ ЗАЯВКИ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ	Літера	Аркуш	Аркушів
Розроб.		Борова М.О.					66	826
Перевір.		Старовойтова						
Консульт.								
Н. контр.								
Зав.кафедр.		Стабніков В.П.			Кафедра БТМ			

тощо), що застосовуються для інгібування росту патогенних мікроорганізмів та антиоксидантної дії, але в останні роки зростає попит на впровадження безпечніших, натуральних та дієвих антимікробних засобів, що призвело до досліджень дії бактеріоцинів. Даним сполукам надано загально визнаний статус як безпечних, що надає змогу використовувати їх у харчовій промисловості.

Наразі в розробці представлено виготовлення біопластичних плівок за основу яких береться хітозан або комплекс хітозану та агар-агару з додаванням бактеріоцинів з метою використання у харчовій промисловості для упаковки продукції. Методом додавання активних сполук є як нанесення їх на поверхню поліетиленової плівки, так і додавання очищеного екстракту бактеріоцину у рецептуру.

У дослідженні нанесення бактеріоцину соноресину та нізину на поліетиленову плівку низької щільності було продемонстровано інгібуючу активність проти *S. aureus* та *E. coli*. Нанесені білки проявляли здатність пригнічення утворення біоплівок та передчасне біообростання молочних продуктів. Однак даний метод має недоліки у вигляді використання поліетиленової плівки, що потребує довшого часу на розкладання та має гідрофобну поверхню, що може ускладнювати процес рівномірного покриття і подальшого вивільнення бактеріоцинів для контакту з харчовою продукцією (Chopra та ін.,2015).

Альтернативою поліетиленових плівок низької щільності є виготовлення біопластичної плівки на основі хітозану та агар-агару з додаванням бактеріоцинів. Агар-агар є природним полісахаридом, це термопластичний, біосумісний та біорозкладний матеріал. Хітозан також є природним матеріалом, що отримують переважно з залишків панцирів ракоподібних, екзоскелетів комах та клітинної мембрани грибів. Об'єднання даних полімерів дозволяє синтезувати біопластичну плівку з матеріалів, що є більш екологічними (Contessa та ін.,2021).

Перевагою обраного методу є використання *Lactobacillus pentosus* ZFM94 продуцента пентоцину ZFM94, що синтезується у концентрації 3,65 мг/л за 18-20 годин, характеризується широкою антибактеріальною активністю проти грампозитивних та грамнегативних бактерій (*Micrococcus luteus*, *Staphylococcus*

aureus D48, *Escherichia coli* DH5 α), а також стійкістю до високих температур (30 хвилин за 80°C) та активністю при широких межах рН (5,0-7,0) (Dai та ін., 2021).

8.3. Опис запропонованого способу

Отримання плівкоутворювального розчину відбувається за рахунок поєднання агар-агару, хітозану та гліцерину у загальному об'ємі розчину 50 мл. Підготовка хітозану відбувається шляхом розчинення його у 1 М оцтової кислоти протягом 25 годин за температури 25 °С та подальшим перемішуванням протягом 30 хвилин. Агар-агар розчиняли у дистильованій воді, надалі плівкоутворюючий розчин у об'ємі 50 мл вливали в чашку Петрі. Отримання біопластичних плівок виконували методом лиття першочергово розчиняючи компоненти на нагрівальній пластині при 80 ± 3 °С (за винятком хітозану) за магнітного перемішування та випаровували в конвективній сушарці протягом 24 годин за 40 ± 2 °С. Перед проведенням аналізів плівки кондиціонували протягом 48 годин (Contessa та ін.,2021).

Активним компонентом біоплівок є очищений екстракт бактеріоцину, які додавали у рідкій формі до рецептури плівки. Для отримання бактеріоцину використовувався штам *Lactobacillus pentosus* ZFM94, який було культивовано у MRS бульйоні за температури 37°C протягом 20 годин. Для одержання синтезованого метаболіту – пентоцину проводили етапи виділення та очищення.

Після отримання пластичної плівки, її поверхню покривають отриманим концентратом бактеріоцину згідно дослідження, що показує, що при виробництві плівки додавали 19,54 мкг/см² бактеріоцину (Wogarpayote та ін.,2017). Вироблені біоплівки мають жовтуватий колір і легку непрозорість, що залежить від додавання екстракту бактеріоцину. Зниження пропуску світла також може слугувати позитивною характеристикою отриманих біоплівок, надає більшої бар'єрності пропуску світла та відповідно захищає продукцію від окислення, зміни кольору та пришвидшеного псування. Плівка з екстрактом мала вдвічі більшу розчинність, що може бути пов'язано наявністю хітозану у складі, який має гідрофобні властивості. Розчинність біопластикової плівки важлива, коли передбачається її застосування в харчових продуктах, особливо коли їжа має високий вміст вологи.

8.4. Формула корисної моделі

Біоактивний пакувальний матеріал, що відрізняється широкою антибактеріальною дією екстракту пентоцину ZFM94 та дозволяє використання у харчовій промисловості з метою подовження терміну придатності, покращення сенсорних властивостей та підтримки мікробіологічної безпеки продукції.

В основу розроблюваного способу вкладено використання штаму *Lactobacillus pentosus* ZFM94, що є продуцентом пентоцину – бактеріоцину, якому властива широка антибактеріальна дія зокрема на патогенні мікроорганізми, що сприяють псуванню їжі. Нанесення екстракту бактеріоцину на біосумісні плівкоутворюючі матеріали, в якості яких використовується суміш хітозану та агару, дає можливість розробити новітні методи пакування харчової продукції з метою збільшення терміну придатності, забезпечення поступового вивільнення біоактивної сполуки протягом часу контакту, що сприяє підвищенню мікробіологічної стабільності продукту.

8.5. Реферат

Розробка належить до галузі харчової біотехнології, зокрема розробки корисної моделі біоактивної пакувальної плівки з інтегрованим покриттям з бактеріоцином, що призначена для створення системи пакування, яка модифікує середовище всередині, активно взаємодіючи з упакованим продуктом або навколишнім середовищем.

Винахід передбачає використання природних антибактеріальних пептидів – бактеріоцинів, що продукуються молочнокислими бактеріями, для застосування в якості пакувального матеріалу та як альтернатива традиційним консервантам хімічного походження. Впровадження цієї корисної моделі сприяє значному зменшенню витрат та відходів харчових продуктів. Знижуючи швидкість мікробіологічного псування, вона допомагає боротися з економічними втратами, пов'язаними з утилізацією зіпсованої їжі, тим самим відповідаючи принципам сталого розвитку.

ВИСНОВКИ

1. В ході огляду літературних джерел, визначено, що бактерії роду *Lactobacillus* мають статус GRAS та виробляють широкий спектр метаболітів, яким властива антимікробна дія, що можна застосовувати у харчовій, фармацевтичній/медичній та сільськогосподарській галузях.

2. Під час аналізу визначено, що *Lactobacillus pentosus* ZFM94 виробляє бактеріоцин пентоцин ZFM94, який проявляє антибактеріальну дію проти грампозитивних та грамнегативних бактерій і грибів. Проаналізований штам виробляє 3,65 мг/л досліджуваного білку, який характеризується високою термостабільністю, активністю у широких діапазонах рН та використовувався як антимікробна основа біоплівок.

3. Біопакувальний матеріал, що використовує антибактеріальний потенціал біктеріоцинів має за мету досягнення цілей сталого розвитку. Впровадження розробки допоможе зменшити витрати та відходи харчової галузі, поліпшити якість продукції та забезпечити здоровий спосіб життя для споживачів, а також підтримувати економічне зростання. Використання біотехнологічних методів дозволить мінімізувати вплив на навколишнє середовище та забезпечення максимальної якості і доступності продукції.

4. Пентоцин ZFM94 в кінцевій формі отримують у вигляді сухого концентрату, для цього проводили наступні технологічні процеси: центрифугування культуральної рідини з метою відділення клітин продуценту, очищення та концентрування ультрафільтрацією, осадження насиченим сульфатом амонію, ультрафільтрація для знесолення та концентрування).

5. Готовим продуктом є антимікробна упаковка, що допомагає продовжити термін придатності продукту, забезпечуючи мікробіологічну безпеку. Технологічна схема отримання включає в себе допоміжні роботи (приготування розчину пентоцину ZFM94) та технологічний процес (замочування попередньо підготованої плівки у розчині, видалення та промивання деіонізованою водою, висушування, пакування у транспортну упаковку).

6. На основі описаних методів та досліджень складено проєкт заявки на корисну модель з розробкою біоактивного пакування з додаванням бактеріоцину пентоцину ZFM94. Пакування виготовляється з біокомпозитарної плівки PLA/SP, що є екологічнішою альтернативою традиційним пакувальним матеріалам. В свою чергу антимікробний потенціал бактеріоцину дозволяє використовувати винахід у харчовій промисловості з метою підвищення мікробіологічної стабільності продукції.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Abdalla, A. K., Ayyash, M. M., Olaimat, A. N., Osaili, T. M., Al-Nabulsi, A. A., Shah, N. P., & Holley, R. (2021). Exopolysaccharides as antimicrobial agents: Mechanism and spectrum of activity. *Frontiers in Microbiology*, 12, 664395.
2. Abedi, E., & Hashemi, S. M. B. (2020). Lactic acid production–producing microorganisms and substrates sources-state of art. *Heliyon*, 6(10).
3. Acedo, J. Z., van Belkum, M. J., Lohans, C. T., McKay, R. T., Miskolzie, M., & Vederas, J. C. (2015). Solution structure of acidocin B, a circular bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus* M46. *Applied and environmental microbiology*, 81(8), 2910–2918. <https://doi.org/10.1128/AEM.04265-14>
4. Adnan, M., Siddiqui, A. J., Noumi, E., Ashraf, S. A., Awadelkareem, A. M., Hadi, S., Snoussi, M., Badraoui, R., Bardakci, F., Sachidanandan, M., & Patel, M. (2023). Biosurfactant derived from probiotic *Lactobacillus acidophilus* exhibits broad-spectrum antibiofilm activity and inhibits the quorum sensing-regulated virulence. *Biomolecules & biomedicine*, 23(6), 1051–1068.
5. Aljohani, A. B., Al-Hejin, A. M., & Shori, A. B. (2023). Bacteriocins as promising antimicrobial peptides, definition, classification, and their potential applications in cheeses. *Food Science and Technology*, 43, e118021.
6. Angelescu, I.-R., Grosu-Tudor, S.-S., Cojoc, L.-R., Maria, G.-M., Chirițoiu, G. N., Munteanu, C. V. A., & Zamfir, M. (2022). Isolation, characterization, and mode of action of a class III bacteriocin produced by *Lactobacillus helveticus* 34.9. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 38(12).
7. Anjana, A., & Tiwari, S. K. (2022). Bacteriocin-producing probiotic lactic acid bacteria in controlling dysbiosis of the gut microbiota. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 12, 851140.
8. Automatic Industrial Bacteria and Spores Separation Extraction Disk Stack Centrifuge [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://bailunbio.en.made-in-china.com/product/EFgaqpJUThYG/China-Automatic-Industrial-Bacteria-and-Spores-Separation-Extraction-Disk-Stack-Centrifuge.html>

9. Banerjee, S., Kanaujia, A., Malik, S., & Sharma, S. (2022). Bacteriocins: Potential Usage and Mechanism of Action. *International Journal of Recent Advances in Multidisciplinary Research*, 9(08), 7897-7906.
10. Barefoot, S. F., & Klaenhammer, T. R. (1983). Detection and activity of lactacin B, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus*. *Applied and environmental microbiology*, 45(6), 1808–1815. <https://doi.org/10.1128/aem.45.6.1808-1815.1983>
11. Bédard, F., Hammami, R., Zirah, S., Rebuffat, S., Fliss, I., & Biron, E. (2018). Synthesis, antimicrobial activity and conformational analysis of the class IIa bacteriocin pediocin PA-1 and analogs thereof. *Scientific reports*, 8(1), 9029. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27225-3>
12. Bintsis, T. (2018). Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. *AIMS microbiology*, 4(4), 665.
13. Butorac, K., Novak, J., Banić, M., Leboš Pavunc, A., Čuljak, N., Oršolić, N., Odeh, D., Perica, J., Šušković, J., & Kos, B. (2023). Modulation of the Gut Microbiota by the Plantaricin-Producing *Lactiplantibacillus plantarum* D13, Analysed in the DSS-Induced Colitis Mouse Model. *International journal of molecular sciences*, 24(20), 15322. <https://doi.org/10.3390/ijms242015322>
14. Certificate of analysis [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://documents.thermofisher.com/TFS-Assets/GC/certificate/Certificates-of-Analysis/J66370-P20E021.pdf>
15. Chanos, P., & Mygind, T. (2016). Co-culture-inducible bacteriocin production in lactic acid bacteria. *Applied microbiology and biotechnology*, 100(10), 4297-4308.
16. Chen, X., Bai, H., Mo, W., Zheng, X., Chen, H., Yin, Y., Liao, Y., Chen, Z., Shi, Q., Zuo, Z., Liang, Z., & Peng, H. (2025). Lactic Acid Bacteria Bacteriocins: Safe and Effective Antimicrobial Agents. *International journal of molecular sciences*, 26(9), 4124. <https://doi.org/10.3390/ijms26094124>
17. Chen, X., Wei, Z., Feng, Z., Che, Y., Wang, X., Long, H., Cai, X., Ren, W., & Xie, Z. (2025). Large-scale fermentation of *Lactiplantibacillus pentosus* 292 for the production of lactic acid and the storage strategy based on molasses as a preservative. *BMC microbiology*, 25(1), 125. <https://doi.org/10.1186/s12866-025-03837-4>

18. Chopra, L., Singh, G., Kumar Jena, K., & Sahoo, D. K. (2015). Sonorensin: A new bacteriocin with potential of an anti-biofilm agent and a food biopreservative. *Scientific reports*, 5, 13412. <https://doi.org/10.1038/srep13412>
19. Contessa, C. R., da Rosa, G. S., & Moraes, C. C. (2021). New active packaging based on biopolymeric mixture added with bacteriocin as active compound
20. Dai, M., Li, Y., Xu, L., Wu, D., Zhou, Q., Li, P., & Gu, Q. (2021). A novel bacteriocin from *Lactobacillus pentosus*ZFM94 and Its antibacterial mode of action. *Front Nutr* 8: 7108621
21. Dashe, D., Hansen, E. B., Kurtu, M. Y., Berhe, T., Eshetu, M., Hailu, Y., ... & Shegaw, A. (2020). Preservation of raw camel milk by lactoperoxidase system using hydrogen peroxide producing lactic acid bacteria. *Open Journal of Animal Sciences*, 10(3), 387-401.
22. de Mesquita, A. R. C., da Mota Silveira, L. P., da Cruz Filho, I. J., de Lima, V. F., da Mota Silveira Filho, V., Araujo, A. A., ... & da Silva Macedo, L. (2017). Metabolism and physiology of Lactobacilli: a review. *Journal of Environmental Analysis and Progress*, 125-136.
23. Drissi, F., Raoult, D., & Merhej, V. (2017). Metabolic role of lactobacilli in weight modification in humans and animals. *Microbial pathogenesis*, 106, 182-194.
24. Fernandes, A., & Jobby, R. (2022). Bacteriocins from lactic acid bacteria and their potential clinical applications. *Applied biochemistry and biotechnology*, 194(10), 4377–4399. <https://doi.org/10.1007/s12010-022-03870-3>
25. Fragomeni, B. O., Lourenco, D. A., Tsuruta, S., Masuda, Y., Aguilar, I., Legarra, A., Lawlor, T. J., & Misztal, I. (2015). Hot topic: Use of genomic recursions in single-step genomic best linear unbiased predictor (BLUP) with a large number of genotypes. *Journal of dairy science*, 98(6), 4090–4094. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-9125>
26. Gaspar, C., Donders, G. G., Palmeira-de-Oliveira, R., Queiroz, J. A., Tomaz, C., Martinez-de-Oliveira, J., & Palmeira-de-Oliveira, A. (2018). Bacteriocin production of the probiotic *Lactobacillus acidophilus* KS400. *Amb Express*, 8(1), 153.

27. Goel, A., Halami, P. M., & Tamang, J. P. (2020). Genome Analysis of *Lactobacillus plantarum* Isolated From Some Indian Fermented Foods for Bacteriocin Production and Probiotic Marker Genes. *Frontiers in microbiology*, *11*, 40. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00040>
28. Golneshin, A., Gor, M. C., Vezina, B., Williamson, N., Van, T. T. H., May, B. K., & Smith, A. T. (2020). Discovery and characterisation of novel circular bacteriocin plantacyclin B21AG from *Lactobacillus plantarum*B21
29. Gumienna, M., & Górna, B. (2021). Antimicrobial Food Packaging with Biodegradable Polymers and Bacteriocins. *Molecules (Basel, Switzerland)*, *26*(12), 3735. <https://doi.org/10.3390/molecules26123735>
30. Heidari, Z., Ghasemi, M. F., & Modiri, L. (2021). Antimicrobial activity of bacteriocin produced by a new *Lactobacillus curvatus* sp.LAB-3H isolated from traditional yogurt. *Archives of Microbiology*, *204*(1).
31. Huang, J., Wang, Z., Zhang, J., Zhang, X., Ma, J., & Wu, Z. (2015). A novel composite conductive microfiltration membrane and its anti-fouling performance with an external electric field in membrane bioreactors. *Scientific reports*, *5*(1), 9268.
32. Kanatani, K., Oshimura, M., & Sano, K. (1995). Isolation and characterization of acidocin A and cloning of the bacteriocin gene from *Lactobacillus acidophilus*. *Applied and environmental microbiology*, *61*(3), 1061–1067. <https://doi.org/10.1128/aem.61.3.1061-1067.1995>
33. Kotykova, O., Babych, M., & Pohorielova, O. (2020). Втрати продовольства та харчові відходи в ланцюзі створення вартості продовольства в Україні. *Agricultural and Resource Economics: International Scientific E-Journal*, *6*(3), 191-220.
34. Kumariya, R., Garsa, A. K., Rajput, Y. S., Sood, S. K., Akhtar, N., & Patel, S. (2019). Bacteriocins: Classification, synthesis, mechanism of action and resistance development in food spoilage causing bacteria. *Microbial Pathogenesis*, *128*, 171–177.
35. Marcelli, V., Osimani, A., & Aquilanti, L. (2024). Research progress in the use of lactic acid bacteria as natural biopreservatives against *Pseudomonas* spp. in meat and meat products: A review. *Food Research International*, *196*, 115129.

36. Mathiesen, G., Huehne, K., Kroeckel, L., Axelsson, L., & Eijsink, V. G. (2005). Characterization of a new bacteriocin operon in sakacin P-producing *Lactobacillus sakei*, showing strong translational coupling between the bacteriocin and immunity genes. *Applied and environmental microbiology*, 71(7), 3565–3574. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.7.3565-3574.2005>
37. Mokoena M. P. (2017). Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins: Classification, Biosynthesis and Applications against Uropathogens: A Mini-Review. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 22(8), 1255. <https://doi.org/10.3390/molecules22081255>
38. Nájera, A. I., Nieto, S., Barron, L. J. R., & Albisu, M. (2021). A review of the preservation of hard and semi-hard cheeses: Quality and safety. *International journal of environmental research and public health*, 18(18), 9789.
39. Omersa, N., Podobnik, M., & Anderluh, G. (2019). Inhibition of pore-forming proteins. *Toxins*, 11(9), 545.
40. Patel, M., Siddiqui, A. J., Hamadou, W. S., Surti, M., Awadelkareem, A. M., Ashraf, S. A., ... & Adnan, M. (2021). Inhibition of bacterial adhesion and antibiofilm activities of a glycolipid biosurfactant from *Lactobacillus rhamnosus* with its physicochemical and functional properties. *Antibiotics*, 10(12), 1546.
41. Peng, S., Song, J., Zeng, W., Wang, H., Zhang, Y., Xin, J., & Suo, H. (2021). A broad-spectrum novel bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* SHY 21–2 from yak yogurt: Purification, antimicrobial characteristics and antibacterial mechanism. *LWT*, 142, 110955.
42. Peredriy, O. (2021). Активне та розумне пакування харчових продуктів. Товарознавчий Вісник. <https://doi.org/10.36910/6775-2310-5283-2021-14-7>.
43. Putri, D. A., Lei, J., Rossiana, N., & Syaputri, Y. (2024). Biopreservation of Food Using Bacteriocins From Lactic Acid Bacteria: Classification, Mechanisms, and Commercial Applications. *International journal of microbiology*, 2024, 8723968. <https://doi.org/10.1155/ijm/8723968>
44. Qiao, X., Sun, X., Wang, S., Zhai, C., Tang, W., Tang, T., Zhang, J., & He, Z. (2025). Characterization of Flexusin A, a Novel Circular Bacteriocin Produced by Marine

45. Ramu, Ramith & Shirahatti, Prithvi & Devi, Aishwarya & Prasad, Ashwini & Kumuda, J. & Lochana, M. & Zameer, F. & Bhadrappura Lakkappa, Dhananjaya & Prasad M N, Nagendra. (2017). Bacteriocins and Their Applications in Food Preservation. *Critical reviews in food science and nutrition*. 60. 10.1080/10408398.2015.1020918.

46. Rani, R. P., Anandharaj, M., and David Ravindran, A. (2018). Characterization of a novel exopolysaccharide produced by *Lactobacillus gasseri* FR4 and demonstration of its in vitro biological properties. *Int. J. Biol. Macromol.* 109, 772–783.

47. Ren, S., Yuan, X., Liu, F., Fang, F., Iqbal, H. M., Zahran, S. A., & Bilal, M. (2022). Bacteriocin from *Lacticaseibacillus rhamnosus* sp. A5: isolation, purification, characterization, and antibacterial evaluation for sustainable food processing. *Sustainability*, 14(15), 9571.

48. Riaz Rajoka, M. S., Jin, M., Haobin, Z., Li, Q., Shao, D., Jiang, C., et al. (2018). Functional characterization and biotechnological potential of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus rhamnosus* strains isolated from human breast milk. *LWT* 89, 638–647.

49. Riaz Rajoka, M. S., Wu, Y., Mehwish, H. M., Bansal, M., & Zhao, L. (2020). *Lactobacillus* exopolysaccharides: New perspectives on engineering strategies, physiochemical functions, and immunomodulatory effects on host health. *Trends in Food Science & Technology*, 103, 36–48.

50. Ribeiro, B. G., Guerra, J. M. C., & Sarubbo, L. A. (2020). Biosurfactants: Production and application prospects in the food industry. *Biotechnology Progress*, 36(5). Portico.

51. Scherer, K. M., Spille, J. H., Sahl, H. G., Grein, F., & Kubitscheck, U. (2015). The lantibiotic nisin induces lipid II aggregation, causing membrane instability and vesicle budding. *Biophysical journal*, 108(5), 1114-1124.

52. Sgibnev, A., & Kremleva, E. (2016). Influence of Hydrogen Peroxide, Lactic Acid, and Surfactants from Vaginal *Lactobacilli* on the Antibiotic Sensitivity of Opportunistic Bacteria. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 9(2), 131–141.

53. Solis-Balandra, M. A., & Sanchez-Salas, J. L. (2024). Classification and multi-functional use of bacteriocins in health, biotechnology, and food industry. *Antibiotics*, 13(7), 666.
54. Szczerbic, D., Piechocka, J., Głowacki, R., & Torzewska, A. (2022). Organic acids secreted by *Lactobacillus* spp. isolated from urine and their antimicrobial activity against uropathogenic *Proteus mirabilis*. *Molecules*, 27(17), 5557.
55. Tabacof, A., Calado, V., & Pereira, N., Jr. (2023). Third Generation Lactic Acid Production by *Lactobacillus pentosus* from the Macroalgae *Kappaphycus alvarezii* Hydrolysates. *Fermentation*, 9(4), 319. <https://doi.org/10.3390/fermentation9040319>
56. Tachedjian, G., Aldunate, M., Bradshaw, C. S., & Cone, R. A. (2017). The role of lactic acid production by probiotic *Lactobacillus* species in vaginal health. *Research in microbiology*, 168(9-10), 782-792.
57. Tachedjian, G., O'Hanlon, D. E., & Ravel, J. (2018). The implausible “in vivo” role of hydrogen peroxide as an antimicrobial factor produced by vaginal microbiota. *Microbiome*, 6(1), 29.
58. Turovskiy, Y., Ludescher, R. D., Aroutcheva, A. A., Faro, S., & Chikindas, M. L. (2009). Lactocin 160, a Bacteriocin Produced by Vaginal *Lactobacillus rhamnosus*, Targets Cytoplasmic Membranes of the Vaginal Pathogen, *Gardnerella vaginalis*. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 1(1), 67–74. <https://doi.org/10.1007/s12602-008-9003-6>
59. UKRAINE HUMAN CAPITAL CHARTBOOK MAY 2025 [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://kse.ua/wp-content/uploads/2025/05/Ukraine-Human-Capital-Chartbook-2025.pdf>
60. Ultrafiltrated Water Ultrafiltration 30000L/H New Membrane Process Used in Water Treatment [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://chunke.en.made-in-china.com/product/dnGpXgiPYDVH/China-30000L-H-Ultrafiltrated-Water-Ultrafiltration-New-Membrane-Process-Used-in-Water-Treatment.html>
61. Verma, Deepak & Thakur, Mamta & Singh, Smita & Tripathy, Soubhagya & Gupta, Alok & Baranwal, Deepika & Patel, Ami & Shah, Nihir & Utama, Gemilang Lara & Niamah, Alaa & Chávez, Mónica L. & Gallegos, Carolina & Aguilar, Cristobal &

Srivastav, Prem. (2022). Bacteriocins as antimicrobial and preservative agents in food: Biosynthesis, separation and application. *Food Bioscience*, 46, 101594. 10.1016/j.fbio.2022.101594.

62. Wang, C., Chang, T., Yang, H., & Cui, M. (2015). Antibacterial mechanism of lactic acid on physiological and morphological properties of *Salmonella Enteritidis*, *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 47, 231–236.

63. Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., ... & Geng, W. (2021). Metabolism characteristics of lactic acid bacteria and the expanding applications in food industry. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 9, 612285.

64. Wei, Y., Wang, J., Liu, Z., Pei, J., Brennan, C., & Abd El-Aty, A. M. (2022). Isolation and Characterization of Bacteriocin-Producing *Lactocaseibacillus rhamnosus* XN2 from Yak Yoghurt and Its Bacteriocin. *Molecules*, 27(7), 2066.

65. Woraprayote, W., Kingcha, Y., Amonphanpokin, P., Krueenate, J., Zendo, T., Sonomoto, K., Benjakul, S., & Visessanguan, W. (2013). Anti-listeria activity of poly(lactic acid)/sawdust particle biocomposite film impregnated with pediocin PA-1/AcH and its use in raw sliced pork. *International journal of food microbiology*, 167(2), 229–235. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.09.009>

66. Woraprayote, Weerapong & Pumpuang, Laphaslada & Tosukhowong, Amonlaya & Zendo, Takeshi & Sonomoto, Kenji & Benjakul, Soottawat & Visessanguan, Wonnop. (2017). Antimicrobial biodegradable food packaging impregnated with Bacteriocin 7293 for control of pathogenic bacteria in pangasius fish fillets. *LWT - Food Science and Technology*. 89. 10.1016/j.lwt.2017.10.026.

67. World Population Prospects 2022 Summary of Results [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://www.un.org/development/desa/pd/sites/www.un.org.development.desa.pd/files/wp2022_summary_of_results.pdf

68. Xu, C., Fu, Y., Liu, F., Liu, Z., Ma, J., Jiang, R., Song, C., Jiang, Z., & Hou, J. (2021). Purification and antimicrobial mechanism of a novel bacteriocin produced by *Lactobacillus rhamnosus* 1.0320. *LWT*, 137, 110338.

69. Ye, P., Wang, J., Liu, M., Li, P., & Gu, Q. (2021). Purification and characterization of a novel bacteriocin from *Lactobacillus paracasei* ZFM54. *Lwt*, 143, 111125.
70. Zhu, R., Liu, X., Li, X., Zeng, K., & Yi, L. (2021). Transformation of Inferior Tomato into Preservative: Fermentation by Multi-Bacteriocin Producing *Lactobacillus paracasei* WX322. *Foods*, 10(6), 1278.
71. Zimina, M., Babich, O., Prosekov, A., Sukhikh, S., Ivanova, S., Shevchenko, M., & Noskova, S. (2020). Overview of global trends in classification, methods of preparation and application of bacteriocins. *Antibiotics*, 9(9), 553.
72. Zydney, Andrew. (2020). New developments in membranes for bioprocessing – A review. *Journal of Membrane Science*. 620. 118804. 10.1016/j.memsci.2020.118804.
73. Вага лабораторна до 1 кг ТВЕ-1-0.01-а, дискретність 0.01 г, 2 клас, аккумулятор [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://labimpex.com.ua/ua/p888310946-vesy-laboratornye-tve.html?srsleid=AfmBOoquwnmdKWKbBesIw9szfMM8csuA0JIY-RPFwBWBysdK7yYxCz3k>
74. Випарник ротаційний RV 10 digital V-C [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://labtime.ua/uk/isparitel-rotacionnyy-rv-10-digital-v-c-p85820>
75. Високошвидкісна сушильна машина [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://ua.raylimachinery.com/dryer-machine/high-speed-dryer-machine.html>
76. Відцентровий насос QHS-100-7.5, AISI 304, для розчину гліцерину [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://prom-nasos.com.ua/ua/catalog/pumps-by-type/console_pumps/v-dcentroviy-nasos-qhs-100-75-aisi-304
77. ДСТУ-Н ISO/IEC Guide 41:2004 Настанови стосовно пакування. Положення, спрямовані на задоволення потреб споживача (ISO/IEC Guide 41:2003, IDT). [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://online.budstandart.com.ua/catalog/doc-page.html?id_doc=93916
78. Збірник СМ-350 мобільний [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://promvit.com.ua/zbirnik-sm-350-mobilnij/>

79. Калініна О.С., & Байцар Р.І. (2017). Аналіз впливу паковань на якість продуктів харчування. *ScienceRise*, 2 (1 (31)), 28-36.
80. Карлаш Ю.В., Красінько В.О. Основи проєктування біотехнологічних виробництв. Електронний ресурс: Навч. посібник. –К.:НУХТ, 2022. –373 с.
81. Кірович Н., Козирська О. Переваги використання різних видів упакувань при зберіганні ковбасних виробів. Сучасні виклики та шляхи покращення технології виробництва продукції тваринництва: мат-ли III Міжнар. наук.-практ. конф. НПП та молодих науковців (м.Одеса, 06 – 07 червня 2024 р.) / ОДАУ. Одеса, 2024. С. 67-70.
82. Кравченко О. О., Савчук О. М., Остапченко Л. І. Загальна біотехнологія : навчальний посібник / О. О. Кравченко, О. М. Савчук, Л. І. Остапченко. – К. : ВПЦ "Київський університет", 2019. – 269 с.
83. Михайлов, В. М., Онищенко, В. М., Островерх, І. С., Большакова, В. А., & Скуріхіна, Л. А. (2016). Оцінка проникності натуральних ковбасних оболонок. *Технологический аудит и резервы производства*, 6(3), 22–27.
84. Новітні напрями у біотехнології та фармації [Електронний ресурс]: методичні рекомендації до виконання курсового проєкту для здобувачів освітнього ступеня «магістр» спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» освітньо-професійної програми «Промислова та фармацевтична біотехнологія» денної та заочної форм здобуття освіти / уклад.: Т.П. Пирог, В.О. Красінько, О.І. Скроцька. - К: НУХТ, 2024. - 37 с.
85. Реактор для мазей РСГП-1500 ВК із зовнішнім контуром циркуляції продукту GMP [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://promvit.com.ua/reaktor-dlya-mazej-rsgp-1500-vk-s-vneshnim-konturom-cirkulyacii-produkta/>
86. Реактор з нержавіючої сталі 304 на 10 000 літрів, 15 бар внутрішній, 4,5 бар оболонка [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.perry-equipment.com/uk/equipment/7771666-fmb-10000-litre-reaktor-nzh-atmosfiernii-ta-pid-tiskom-0-499-ghaloniv>
87. Термозбіжна машина прохідного типу ТТ-15-ПАП [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://pack-tech.com.ua/ua/p936270335-termousadochnaya-mashina-prohodnogo.html?source=merchant_center&gad_source=1&gad_campaignid=225401643

[66&gbraid=0AAAAABdE5xu3WE_qcGtZ2-K5t72cLsOVP&gclid=EAIaIQobChMIur_ArLiwkQMVXqb9BR2dqyUVEAQYBCABEgKGvvD_BwE](https://www.google.com/search?q=термозбіжна+плівка&gbraid=0AAAAABdE5xu3WE_qcGtZ2-K5t72cLsOVP&gclid=EAIaIQobChMIur_ArLiwkQMVXqb9BR2dqyUVEAQYBCABEgKGvvD_BwE)

88. Термозбіжна плівка [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://plastmodern.com.ua/ua/plivka_termozbizhna_article

89. УСТАТКУВАННЯ ДЛЯ ПЕРЕРОБКИ ПОЛІМЕРІВ [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://stankiplast.com.ua/card4/tsentrifuga-rotornaya/>