

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

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

«До захисту в ЕК»

Директор інституту(декан факультету)

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

«\_\_» \_\_\_\_\_ 2023 р.

«До захисту допущено»

Завідувач кафедри

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

«\_\_» \_\_\_\_\_ 2023 р.

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА  
НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ МАГІСТРА**

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

освітньо-професійної програми «Промислова біотехнологія»

на тему: «Біотехнологія ферментованих напоїв на основі нетрадиційної сировини»

Виконав: здобувач 2 курсу, групи 02

Анастасія Ігорівна ВАВІЛОВА  
(прізвище, ім'я, по батькові повністю) \_\_\_\_\_ (підпис)

Керівник Вікторія Олегівна КРАСІНЬКО  
(прізвище, ім'я та по батькові повністю) \_\_\_\_\_ (підпис)

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

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

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

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

Засвідчую, що в цій кваліфікаційній роботі  
немає запозичень із праць  
інших авторів без відповідних  
посилань.

Здобувач \_\_\_\_\_

(підпис)

# НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) Біотехнології та екологічного контролю  
Кафедра біотехнології і мікробіології  
Освітній ступінь магістр  
Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»  
(код і назва)  
Освітньо-професійна програма «Промислова біотехнологія»  
(назва)

## ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології і  
мікробіології

Віктор СТАБНИКОВ

“ 01 ” листопада 2022 року

## З А В Д А Н Н Я

### НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

Вавілової Анастасії Ігорівни

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи «Біотехнологія ферментованих напоїв на основі нетрадиційної сировини»

керівник роботи Красінько Вікторія Олегівна доц., к.т.н.

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

затверджені наказом закладу вищої освіти від 31 жовтня 2022 року № 780-кс

2. Строк подання здобувачем роботи 03.02.2022

3. Вихідні дані до роботи *Medusomyces gisevii*

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

Розділ 1. Огляд літератури; Розділ 2. Техніко-економічне обґрунтування; Розділ 3.

Специфікація обладнання; Розділ 4. Опис технологічної схеми біосинтезу

цільового продукту; Розділ 5. Контроль виробництва; Розділ 6. Проект технічних

умов на цільовий продукт.

5. Перелік графічного матеріалу

Технологічна схема – 1 аркуш А1, апаратурна схема – 2 аркуши А3



## РЕФЕРАТ

У магістерській роботі наведено результати ґрунтовного аналізу сучасних наукових публікацій, присвячених процесу виробництва ферментованих напоїв з використанням нетрадиційної сировини, у ході якого встановлено перспективу розробки технологічного процесу ферментованого напою «Комбуча» на основі закваски *SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast)*.

Аналіз літературних даних дозволив сформулювати основні підходи до розроблення технологічного процесу. Виробництво ферментованого напою «Комбуча» включає в себе такі етапи: допоміжні роботи (санітарна підготовка виробництва), основний технологічний процес в який входить: біосинтез цільового продукту та підготовчі етапи для біосинтезу, процес виділення ферментованого напою, розлив, пакування та маркування ферментованого напою.

Згідно аналізу літературних статей, встановлено, що ферментація Комбучі відбувається не лише з використанням чаю, як сировини. Прикладом слугує Комбуча з використанням у якості сировини виноградного соку. У ягодах винограду міститься від 2,5 до 6% вільних і зв'язаних у вигляді солей органічних кислот. Також виноградні ягоди містять необхідні для організму людини мінеральні солі та мікроелементи. Саме тому, виготовлення Комбучі з використанням виноградного соку у якості сировини, є актуальним та перспективним виробництвом.

Кваліфікаційна робота викладена на 126 сторінках друкованого тексту, містить 15 таблиць, 2 схеми, 9 рисунків і складається з семи розділів, списку використаної літератури (110 джерел) та графічної частини (3 креслення формату А1).

**Ключові слова:** Комбуча, чайний гриб, *Medusomyces gisevii*, ферментовані напої, безалкогольний напій, концентрат, низькокалорійний напій, тонізувальний напій, напій соковмісний.

## ЗМІСТ

ВСТУП.....	4
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	6
1.1. Соціальна значимість раціональної дієти з використанням функціональних харчових продуктів .....	6
1.2. Актуальність виготовлення ферментованих напоїв .....	8
1.3. Технологічні показники Комбучі .....	17
1.4. Технологічні особливості одержання «Комбучі» .....	27
РОЗДІЛ 2. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ .....	29
2.1. Потреба у цільовому продукті.....	29
2.2. Обґрунтування способу культивування .....	38
2.3. Обґрунтування стадій виділення і очищення цільового продукту.....	47
2.3.1. Фільтрування розчину.....	50
2.3.2. Карбонізація та зберігання готового напою «Комбуча» у форфасах.....	51
2.3.3. Розлив та маркування напою.....	52
2.4. Обґрунтування форми випуску продукту .....	52
2.4.1. Органічний концентрат напою чайного гриба .....	52
2.4.2. Біоактивна добавка Комбуча.....	53
2.4.3. Ферментований напій Комбуча.....	55
2.5. Обґрунтування вибору упаковки .....	57
2.5.1. Комбуча в кегах та ПЕТ-упакуванні .....	57
2.5.2. Скляна пляшка.....	58
РОЗДІЛ 3. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ.....	59
РОЗДІЛ 4. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ БІОСИНТЕЗУ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ.....	64
РОЗДІЛ 5. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА .....	76
5.1. Карта постадійного контролю доферментаційних процесів .....	76
5.1. Мікробіологічний контроль .....	81
РОЗДІЛ 7. ПРОЕКТ ТЕХНІЧНИХ УМОВ НА ЦІЛЬОВИЙ ПРОДУКТ.....	86
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	105
ДОДАТКИ.....	116

## ВСТУП

Ферментовані напої вважаються однією з перспективних груп продуктів для збагачення цінними харчовими компонентами, а низька вартість і високі споживчі властивості забезпечують масовість вживання і попит у населення. Присутність в раціоні харчування людини напоїв, збагачених біологічно активними речовинами, сприяє позитивному впливу на здоров'я, покращенню обміну речовин, регулюванню кислотності шлунку за рахунок присутності різноманітних вітамінів та мікроелементів [1].

Недостатнє надходження мікронутрієнтів з їжею – загальна проблема всіх цивілізованих країн. Вона виникла внаслідок зниження енерговитрат і зменшення загальної кількості їжі. Таким чином, раціон харчування, достатній для поповнення помірних енерговитрат, не може забезпечити організм необхідною кількістю вітамінів, мінеральних речовин і харчових волокон, потреба в яких істотно зросла внаслідок зростання стресових і екологічно несприятливих факторів. Світовий і вітчизняний досвід свідчать, що ефективно й економічно доступно забезпечити населення мікронутрієнтами можна за рахунок створення дешевих комбінованих харчових продуктів, збагачених вітамінами, мінеральними речовинами і харчовими волокнами [1,2].

Беручи до уваги, що сучасна безалкогольна промисловість пропонує здебільшого безалкогольні напої на основі штучних ароматизаторів і барвників, необхідні розробки й популяризація таких напоїв, технологія яких заснована на використанні природної сировини [1,2,3].

На українському ринку безалкогольних напоїв споживачам пропонується широкий асортимент соковмісних напоїв, солодких газованих напоїв, енергетичних напоїв, холодного чаю і квасу.

					НУХТ БТЕК 02.01.16		КР ПЗ				
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	<b>ВСТУП</b>			Літ.	Арк.	Акрюшів	
Розроб.		Вавілова А.І.							4	124	
Перевір.		Красінко В.О.						Кафедра БТМ			
Консультант											
Н. Контр.											
Затверд.		Стабніков В.П.									

При цьому все більше споживачів віддають перевагу натуральним і корисним продуктам, що містять у своєму складі нутрієнти, які позитивно впливають на різні функції організму. Порівняння різних груп безалкогольних напоїв із точки зору лікувально-профілактичного та загальнооздоровчого впливу на організм людини свідчить, що однією з найбільш перспективних є група ферментованих напоїв. Їх активна оздоровча дія зумовлена не тільки використанням виключно натуральної сировини, а й застосуванням у технологічному процесі культур мікроорганізмів, корисних для людини [4].

Саме тому, вивчення технологій одержання ферментованих напоїв, аналіз перспективних біологічних агентів для їх отримання, підбір оптимальних технологічних параметрів ферментації в сучасних умовах є без сумніву одними з найбільш **актуальних** питань біотехнології виробництва функціональних ферментованих напоїв.

**Завданням** даної роботи є аналіз функціонального харчування як однієї з прогресивних концепцій побудови раціону сучасної людини, розгляд перспективи виготовлення ферментованих напоїв, а також обґрунтування технологічних особливостей одержання Комбучі, як здорової альтернативи алкогольних напоїв.

**Новизною** роботи є виготовлення «Комбучі» з використанням виноградного соку у якості сировини та продуцентом *Medusomyces gisevii*. При використанні виноградного соку, знижується собівартість продукту, збільшується утилізація відходів та підвищується біотехнологічний рівень виробництва. Знайдені нами дослідження [4] продемонстрували потенціал виноградного соку, як альтернативного відносно дешевого субстрату для виробництва ферментованого напою «Комбуча».

## РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1. Соціальна значимість раціональної дієти з використанням функціональних харчових продуктів.

Функціональне харчування як одна з перспективних та прогресивних концепцій побудови раціону сучасної людини щороку все більше входить в життя українців. Споживачі країн Європи та Америки вже давно з успіхом і задоволенням використовують в їжу продукти, названі функціональними, до них відносять таку їжу або напої, які містять в своєму складі специфічні корисні компоненти. Кожен з відомих на сьогодні функціональних компонентів виконує специфічну функцію, потрапляючи в організм. При цьому насичення того чи іншого функціонального продукту або напою певним компонентом відбувається відповідно до того, які саме фізіологічні ефекти очікуються при його вживанні, такий підхід зумовлює класифікацію функціональних продуктів за наявністю того чи іншого нутрієнта або за функцією, яку він несе.

Функціональні продукти, до яких відносять й напої, можна охарактеризувати як продукти, які призначені для систематичного вживання в їжу в складі звичних раціонів людей різних вікових груп, що здатні попереджати виникнення захворювань та покращувати стан здоров'я за рахунок своїх функціональних нутрієнтів. Напої є одним з найкращих видів функціональних продуктів, оскільки технологія їх виробництва не є занадто складною, а відсутність термічної обробки дозволяє максимально зберігати в продукті вітаміни та інші корисні речовини. Крім того, розчинені у воді активні речовини швидше всмоктуються і засвоюються

Функціональні продукти харчування, у тому числі напої, призначені позитивно впливати на певні функції організму, поліпшувати загальний стан здоров'я та перешкоджати захворюваності [5].

					НУХТ БТЕК 02.01.16		КР ПЗ				
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	<b>РОЗДІЛ 1. Огляд літератури</b>			Літ.	Арк.	Акрюшів	
Розроб.	<i>Вавлова А.І.</i>								6	124	8
Перевір.	<i>Красінко В.О.</i>										
Консультант											
Н. Контр.											
Затверд.	<i>Стабніков В.П.</i>						Кафедра БТМ				

При цьому слід зауважити, що природна рослинна сировина, яка може використовуватись у технології, є цінним і практично незамінним джерелом безпечних біологічно активних речовин, адаптованих до фізіологічних функцій організму людини. У зв'язку з цим важливим та актуальним є питання збагачення напоїв біологічно активними складовими рослинної сировини Єдиної загальноприйнятої класифікації функціональних напоїв немає, однак велика кількість їх видів вимагає розділення їх на групи, в першу чергу – для зручності споживачів. Так, можна розділити напої з функціональними компонентами на дві великі групи: напої загального значення та напої спеціального значення. До групи напоїв загального значення традиційно відносять:

- соковмісні напої (різняються між собою за кількістю соку у кінцевому продукті та за видом соку);
- напої на основі лікарсько-технічної сировини (або фітонапої);
- напої на молочній основі (роль молочної основи може виконувати сироватка або маслянка);
- напої, основою яких є зернова сировина; • напої на основі мінеральних лікувально-столових вод (напої Шорле);
- напої, склад яких є комбінацією різного роду речовин (наприклад, соковмісні напої з додаванням рослинної сировини тощо);
- збагачені напої (збагачення відбувається за рахунок біологічно активних добавок, нутрицевтиків або преміксів).

Групу напоїв спеціального призначення представляють такі види:

- спортивні напої (спеціальні напої для спортсменів, які підвищують фізичну витривалість, покращуючи спортивні результати);
- енергетичні напої (містять кофеїн та інші активні речовини, що сприяють підвищенню працездатності, концентрації уваги та фізичної активності людини);
- діабетичні напої (напої, які можуть забезпечувати профілактику виникнення цукрового діабету, особливо у пацієнтів похилого віку);

- напої для людей різних вікових груп (напої для дітей, підлітків, напої для дорослих);
- напої для дієтичного раціону (використовуються людьми з порушеннями метаболізму, ожирінням, а також для регулювання кількості спожитих калорій);
- напої для людей специфічних професій, умови роботи яких потребують підвищеної витривалості (напої для шахтарів, а також працівників підприємств, пов'язаних з хімічною промисловістю тощо) [6].

Організм людини, який складається на 60% із води, постійно потребує відповідного насичення рідиною, особливо при несприятливих кліматичних умовах, стресових ситуаціях, надмірних фізичних навантаженнях тощо. Серед інших методів гідратації споживачу надається можливість використовувати функціональні напої. Основна особливість таких напоїв – це наявність одного або кількох функціональних «активних» компонентів, які здатні впливати на здоров'я, витривалість, адаптацію до різних умов та настроїв людини. Функціональний напій – це насамперед приємний на смак, охолоджуючий напій, яким із задоволенням насолоджуються люди різного віку. Однак його перевагою над іншими звичайними напоями є насичення організму людини необхідною кількістю поживних речовин, яке відбувається у звичний спосіб та зручний час. Функціональні напої розроблені для людей різних вікових категорій, а також для чоловіків та жінок, які мають різний рівень розумового або фізичного навантаження. Виробництво функціональних напоїв є перспективною галуззю харчової промисловості, оскільки може покращити рівень здоров'я мешканців країни, забезпечуючи їх корисними речовинами, які вони не мають змоги або часу отримати у своєму звичному раціоні.

## **1.2. Актуальність виготовлення ферментованих напоїв.**

В останній час на фоні збільшення обсягів виробництва спостерігається значне розширення асортименту напоїв. Існують різні класифікації, але узагальнюючи їх можна поділити на два основні типи – ферментовані та

неферментовані. До останніх належать як соки так і різноманітні напої з використанням заміників натуральної сировини. Соки поділяються на натуральні та відновлені. Натуральними можна вважати лише ті соки, які отримані безпосередньо з вихідної сировини (фрукти, овочі) без додаткової обробки на підприємстві-виробникові. Відновленими є соки, технологія яких передбачає розведення попередньо концентрованих натуральних соків, яке здійснюють шляхом упарювання. Це забезпечує їх тривале зберігання та можливість транспортування на значні відстані. Слід відзначити, що такий спосіб призводить до руйнування біологічно активних речовин сировини та погіршення якісних властивостей готової продукції [7].

Другим, і найбільш перспективним типом є ферментовані напої. Переважну більшість з них складають напої, отримані дією комплексу ферментів, зосереджених всередині клітини, на її поверхні та зовні оболонки мікроорганізмів. Такі напої отримують шляхом зброджування водних розчинів натуральної сировини (сусло), що містить поживні для мікроорганізмів речовини. До них відносяться вино, пиво, квас, сидр, комбуха, та інші [7].

### **1.2.1. Алкогольні ферментовані напої з використанням нетрадиційної сировини**

#### **Вино**

Вина – це алкогольні напої, які зазвичай виготовляються з винограду або інших фруктів, таких як персики, сливи або абрикоси, банани, бузина, чорний струм тощо. Ці фрукти проходять період ферментації та витримки. У них зазвичай міститься алкоголь вміст алкоголю в них зазвичай коливається від 5 до 13 відсотків.

У статті [6] представлено огляд потенціалу виробництва вина з різних фруктів, класифікації вин та сучасного стану виноробної галузі. Різні класи вина, такі як виноградне вино, фруктове вино, ягідне вино. Також повідомляється про

останні оновлення виробництва вина з різних тропічних і субтропічних фруктів, таких як манго, банан і яблучний сидр.

### **Мангове вино**

Для виготовлення вина плоди необхідно спочатку пульпувати. TSS піднімається до 20° Brix шляхом додавання тростинного цукру; зазвичай використовується 100 ppm SO<sub>2</sub>, в м'якоть додається фермент пектинази (0,5%). Більшу частину м'якоті ферментують за допомогою *S. cerevisiae* зі швидкістю 10% протягом 7-10 днів при 22 ° C. Після фільтрації вино обробляють з бентонітом. Солодке кріплене вино, відоме як «Дашехарі», виготовляється зупинкою бродіння шляхом додавання 10% (v/v) коньяку манго після 5 днів бродіння. Для приготування солодкого вина, тростини цукор додається кількістю 5 г/л. Вміст алкоголю вина манго коливалися від 5 до 13% і вино зазвичай містить низький рівень дубильних речовин. Прийнято також готувалося столове вино з перезрілих фруктів манго [6]

Редді і Редді [7] розробили метод екстракції соку манго з пектиназою. Вони дійшли висновку, що ароматичні сполуки мангового вина можна порівняти за концентрацією з вмістом виноградного. Дані вчені вивчали виробництво, оптимізацію та характеристику вина з десяти сортів манго (*Mangifera indica* Linn.) «Альфонсо», «Распури», «Банганпаллі», «Тотапури», «Аллампур Банеша», «Нелам», «Мульго», «Суварнареха», «Румані» і «Джахангір», зазвичай доступний і вирощений на півдні Індії. Згідно давнього дослідження, можна зробити висновок, що «Банганпаллі», «Тотапури» і сорти «Альфонсо» найбільш підходять для виноробства на основі фізико-хімічних властивостей та органолептичних показників.

### **Яблучний сидр та вино**

Одночасне бродіння яблучного соку з *Saccharomyces cerevisiae* і *Schizosaccharomyces pombe* утворює сидр з допустимим рівнем алкоголю і кислотності. Температура 40 ° C підходить для об'ємного зберігання сидра. Після

бродиння сидр фільтрується. Під час старіння більша частина підвішеного матеріалу осідає, залишаючи решту рідини чистою. Після старіння сидри потрібно пастеризувати при 60°C близько 20-30 хвилин або SO<sub>2</sub> можна використовувати. Яблучне вино - ще один продукт, виготовлений з яблучного соку шляхом алкогольного бродиння і має вміст алкоголю 11 - 14%. Як сидр, яблучний сік або концентрат є основною сировиною, але так як вміст алкоголю у вині більше, ніж у сидру, то концентрат має важливе значення. Додавання солей амонію до ферментуючого розчину знижує вміст спирту у вині за рахунок не розчинення амінокисло. Миття і дроблення плодів, додавання 50 ppm SO<sub>2</sub> і 10% води при виготовленні яблучного вина рекомендується. Відомо, що додавання діамонійфосфату покращило ферментативну здатність [6].

### **Пиво**

У статті [8] зазначається, що заміна дорогого пивоварного солоду несолодкованими вуглеводними матеріалами - одне з найважливіших і нагальних завдань пивоварної промисловості, оскільки це сприяє підвищенню економічної ефективності виробництва. У даній статті розглядається процес бродиння пивного сусла з додаванням яблучного соку та медової основи. Відсутність азотвмісних та фосфоровмісних сполук у медовому та фруктовому суслі, споживаному дріжджами, призводить до уповільнення процесу бродиння, зниження швидкості відтворення дріжджів та їх ферментаційної активності. Для оптимізації складу сусла пропонується використовувати природні джерела засвоюваного азоту і фосфору, зокрема молочну сироватку до 20% за об'ємом. У зразках ферментованих основ з додаванням молочної сироватки концентрація спирту вища. Досліджено динаміку бродиння яблучного та медового сусла з різною кількістю молочної сироватки, в результаті чого було встановлено, що введення 20% молочної сироватки в яблучне сусло дає можливість отримати напій з найкращі органолептичні показники, а також скоротити тривалість бродиння до 5 днів. При сквашуванні сусла на основі меду можна обмежити додавання

сироватки до 20%, що зменшить час бродіння на 2 дні порівняно з контрольним зразком [8].

Для створення нового сорту пива Моргунова Е.М., Тітенкова Н.М. та Камінська І.І., пропонують використовувати екструзійне та картопляне борошно, оскільки дані компоненти сприяють зниженню калорійності даного напою. Проведені дослідження допомогли встановити оптимальну кількість компонентів нетрадиційної сировини в заторі – екструзійне борошно 5-20%, картопляне борошно – 5%. При проведенні дегустаційної оцінки пива було зроблено висновок, що всі сорти виготовленого пива відповідають стандартам на світлі сорти і можуть бути втілені у промислове виробництво [9].

### **1.2.2. Ферментовані слабоалкогольні та безалкогольні напої на основі молока**

#### **Кефір**

Кефір традиційно готували пастухи в горах Кавказу, в мішках зі шкур тварин, дубових бочок або глиняних горщиків. Виробництво і споживання кефіра прийшло з країн Східної Європи, особливо Балкансько-Кавказького регіону та Росії. Однак зараз він стає все більш популярним в Японії, США, на Близькому Сході і в Африці [10,11].

Відомо, що ключовим етапом у виробництві кефіру є ферментація молока. На цій стадії здійснюються процеси, що формували основні властивості готового продукту, зокрема, молочна кислота, спиртове бродіння лактози і гелеутворення [10,11].

У роботі [12] для виготовлення тестових зразків використовувалися наступні продукти: козяче молоко жирності 4,0%; закваска, що містить у собі кефірні гриби; пюре з ожини. Ферментація козячого молока складається з таких операцій: підтримання температури (22°C), додавання закваски, витримування протягом 10-12 годин, охолодження до  $14 \pm 2^\circ\text{C}$  і перемішування через 60-90 хв після початку охолодження (протягом 10-30 хв). В контрольному зразку, приготованому за класичною рецептурою, і трьох прототипах, було замінено

молоко на пюре з ожини 5, 10, 15%. Отримані дані розробки кефіру показують, що використання пюре в приготуванні кефіру підвищують його кислотність. Проба з додаванням ожини в кількості 10% має більш ніжний смак, при цьому приємний колір і фізико-хімічні показники близькі до показників у контрольній пробі [12].

### **Айран**

Айран являється молочним безалкогольним напоєм, він споживається в Туреччині, Болгарії, Македонії, Казахстані, Киргизстані та Азербайджані. Айран традиційно готують шляхом змішування йогурту з водою (30-50%) і сіллю (0,5-1%) [13]. Він також може бути виготовлений промислово шляхом додавання *Streptococcus thermophilus* і *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* до стандартизованого молока [13,14].

### **1.2.3. Традиційні ферментовані безалкогольні або слабоалкогольні напої на основі зернових**

#### **Боза**

Боза, ферментований напій на основі злаків, є одним з видів просового пива. В цьому відношенні його походження можна простежити до 8000-9000 років тому, коли зернові були уперше ферментовані людиною для виробництва напоїв [15]. Він виготовляється з пшеничною або рисовою манною крупи або з комбінації житньої, вівсяної, ячменювої і пшоняного борошна для кращої якості і смаку [16]. Кукурудза також може бути одним з сировинних матеріалів, змішана з цукром.

Боза широко споживається в Туреччині і в інших країнах Балканського півострова, таких як Болгарія (Софія, Варна, Бургас), Албанія, Румунія, Південь Росії [17].

Відмінності в складі і поживності є результатом, по-перше, вживання різних видів і кількості зернових продуктів (сировини) і, по-друге, умов мимовільного

бродіння [18]. Підготовка включає в себе шість етапів: приготування сировини, кип'ятіння, охолодження, проціджування, додавання цукру і бродіння. Ще одним варіантом його виробництва є використання раніше ферментованої бози [17,18,19].

### **Квас**

Квас - це хлібний напій, на основі зернових культур. Традиційно його виготовляють з житнього і ячмінного солоду, житнього борошна і черствого житнього хліба. Інший варіант квасу, південний квас, виготовляється з води, житнього хліба, цукру, дріжджів, ягід ялівцю (*Juniperus communis L.*) і родзинок [18,20].

М'ятний квас - ще один варіант, який виготовляється з несвіжого темного жита, в який додають воду, цукор, сухі дріжджі, свіже листя м'яти і родзинки. М'яту можна опустити або замінити медом або цедрою лимона. Квас має нормальний низький вміст алкоголю, 1% або навіть менше; якщо він перевищує цю концентрацію, то вважається зіпсованим. Існує два основних способи виробництва квасу, які використовуються в якості сировини або черствого хліба на заквасці, або солоду. У першому методі, цукри, необхідні для дріжджового бродіння, отримуються з хліба, в той час як у другому житній солод і житній борошно (кип'ячене з надлишком води) є сировиною, а желатинізований крохмаль розщеплюють солодовими ферментами [5,21].

## **1.2.4. Традиційні ферментовані безалкогольні або слабоалкогольні напої на рослинній основі**

### **Чайний гриб**

Чайний гриб є одним з найпопулярніших LAFB у світі. Протягом останніх десятиліть чайний гриб перетворився з домашнього ферментованого напою на комерційний безалкогольний напій, що виробляється промисловим способом. Вражаючим результатом є те, що ринок чайного гриба, як очікується,

продемонструє високі темпи зростання 17,5% у Сполучених Штатах у період з 2019 по 2024 роки [22].

Традиційно для його виробництва використовується чорний або зелений чай і цукор [22]. Напій спочатку був популярний в Китаї, але нині споживається у всьому світі, показуючи зростаючу популярність в якості традиційного напою. Чайний гриб має злегка солодкий, газований, кислий смак, що нагадує ігристий яблучний сидр [23].

Специфікація ферментації комбучі відрізняється, але типовий процес відбувається так: чорний або зелений чай заварюють не менше 5 хвилин, додають сахарозу (5–10% (мас/об)), охолоджують до кімнатної температури (20°C), а потім інокують рідиною комбучі (зазвичай 10–20%(об/об)) з попередньої партії. Зрілу бактеріальну целюлозу (біоплівку) з попередньої культури чайного гриба або SCOBY, зазвичай поміщають на поверхню розчину та дають бродити протягом 10–14 днів. Наявність джерела вуглецю в розчині, як правило, сахарози, ініціює каскад метаболічних процесів, які генерують газований і слабокислий напій наприкінці циклу первинного бродіння [23].

Моктар Хамді у своєму дослідженні [24] в якості субстрату для ферментації чайного гриба використовував кактусову грушу, з метою розробки нового напою з покращеними харчовими властивостями. У процесі бродіння були визначені зміни хімічних і мікробіологічних параметрів ферментованого соку. Зростання мікрофлори викликало зниження рН з 5,1 до 3,5 і збільшення загального вмісту фенолу на 23% після 6 днів бродіння. Антиоксидантний потенціал напою також був покращений, досягнувши 81% і 65%. Крім того, ферментований сік показав антимікробну активність проти перевірених грампозитивних (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 и *Enterococcus faecalis* ATCC 10541) і грамнегативних бактерій (*Escherichia coli* ATCC 10536, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 і *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027), яка була пов'язана з вмістом оцтової кислоти.

У роботі [25] червоні ягоди годжі (*Lycium barbarum L.*) і чорна ягода годжі (*Lycium ruthenicum Murr.*) були обрані в якості субстратів для виробництва напоїв комбуча, а їх фізико-хімічні, органолептичні та загальні фенольні та антиоксидантні властивості порівнювалися з чорною чашкою чаю. Загальний вміст фенолів і антиоксидантна здатність спостерігаються наступним чином: комбуча чорного чаю > комбуча з ягід годжі > комбуча з червоних ягід годжі. Дане дослідження показало, що чорна ягода годжі і червоні ягоди годжі покращують органолептичні показники напою, підвищують фенольну та антиоксидантну активність порівняно з комбучею чорного чаю.

Дослідження [26] було спрямоване на аналізування впливу різних видів сировини на склад і сенсорні властивості напою комбуча. З цією метою в настій зеленого чаю додали черешневий лавр, червону малину, плоди терну і концентрат чорного морквяного соку. Після 40 годин бродіння при  $28 \pm 2$  °C напої зберігалися при 4°C протягом 10 днів. При бродінні і зберіганні проаналізовано загальну кислотність, рН, колір, загальний вміст фенольних речовин, антиоксидантну здатність (аналізи DPPH, FRAP та CUPRAC) та загальний мономерний вміст антоціаніну у зразках. Крім того, зміни органолептичних властивостей визначалися періодично. Загальний вміст фенолів і антиоксидантні можливості продуктів були збільшені в порівнянні з некультивованими субстратами. Результати показали, що використання багатої на антоціаніни сировини разом із зеленим чаєм для бродіння сприяло поживній цінності, функціональним та сенсорним властивостям напою комбуча.

Також, вченими [27] була досліджена та порівняна антидіабетична активність напою Комбучі на основі зміїного фрукту (салака), чорного чаю і метформіну у діабетичних щурів, викликаних стрептозотоцином. Зміїний фрукт Комбуча, чорний чай Комбуча і метформін перорально вводили діабетичним щурам щодня під час 28-денного експерименту. Досліджено рівень глюкози в плазмі крові (ФПГ), активність супероксиддисмутази (СОД), рівень малондіальдегіду (МДА) та ліпідні профілі (загальний тригліцерид, загальний

холестерин, ЛПНЩ-холестерин та ЛПВЩ-холестерин) плазми крові. Також були проведені імуногістохімічні дослідження підшлункової залози та кількісне визначення  $\beta$ -клітин. Продукти значно ( $p < 0,05$ ) знизили рівень глюкози в плазмі крові (67-76%) і поліпшили показники окислювального стресу і ліпідні профілі. З імуногістохімічного фарбування тканин підшлункової залози, панкреатичні  $\beta$ -клітини також були поліпшені у діабетичних щурів продуктами. Було зроблено висновки, що зміїний фрукт, який використовувався для ферментації Комбучі позитивно впливає на поліпшення стану діабетичних щурів, отже його можна використовувати в якості агента терапії діабету.

### **1.3. Технологічні показники «Комбучі»**

#### **Антимікробна активність напою**

Протимікробні властивості напою активно борються з харчовими патогенами. Вони забезпечують захист від цілого ряду мікроорганізмів, що негативно впливають на здоров'я людини. Приміром є: епідермальний стафілокок, синегнойна паличка, сальмонельоз [28].

У науковому дослідженні [29] антимікробну активність визначають методом дифузії в агар-лунках. Штами вирощують на агарі Мюллера-Хінтона (бактерії) або Sabouraud Dextrose (дріжджі) протягом 24 годин при 37 або 25 °C відповідно і перевіряли на чистоту. Після інкубації клітини змивали з поверхні агару і суспендували в стерильному фізіологічному розчині. Кількість клітин в 1 мл суспензії для інокуляції, виміряна нефелометром Mac Farland, становила  $1 \times 10^7$  КУО/мл. 1 мл суспензії гомогенізували з 19 мл розтопленого (45 °C) агару Мюллера-Хінтона або декстрозного агару Сабуро і розливали в чашки Петрі. Свердловини діаметром 9 мм виготовляли стерильною металевією трубкою за допомогою вакуумного насоса. Потім стерильні зразки (100 мкл) переносили в лунки агарових планшетів, інокулованих досліджуваними мікроорганізмами.

Планшети інкубували при 37 °C (бактерії) або 25 °C (дріжджі) протягом 24 год (бактерії) або 48 год (дріжджі). Після інкубації вимірювали діаметри зон

інгібування. Оцінку антимікробної активності проводили у трьох примірниках, результати записували як діаметр зони гало (мм)  $\pm$  стандартне відхилення.

### **Антиоксидантна властивість напою**

Чай рясніє потужними органічними кислотами, які захищають організм від окислювального ушкодження. Антиоксиданти комбучі видивляються вільні радикали кисню і нейтралізують їх дії. Таким чином, якщо вживати ферментований напій, це захистить організм від серйозних захворювань і запалень [28,29].

Кароліна Якубчук із співаторами [30] антиоксидантну активність зразків вимірювали спектрофотометричним методом із застосуванням синтетичного радикала DPPH (2,2-Діфеніл-1-Пікрилгідрозил, Sigma, Познань, Польща). Спектральне поглинання було виміряно при 518 нм (Agilent 8453UV). Усі аналізи проводили у трьох примірниках. Результати показані у % інгібування радикалів DPPH. Аналіз антиоксидантного потенціалу досліджуваних зразків показав, що вміст антиоксидантних сполук знаходиться в межах від 70,62% до 94,61% інгібування DPPH. На антирадикальні властивості чайного гриба вплинули час ферментації та тип чаю. За типом чаю чайний гриб, приготовлений із зеленого чаю, характеризувався найвищим антиоксидантним потенціалом, досягаючи найвищого значення в перший день бродіння. У випадку кожного з аналізованих напоїв чайного гриба здатність дезактивувати вільні радикали зменшувалася зі збільшенням часу бродіння.

### **Детоксикація**

Чайний квас має здатність до очищення організму. Ферментований чай містить потужний детоксикант глюкуронову кислоту, який знешкоджує токсини в печінці і виводить їх. Це також знижує навантаження на підшлункову залозу, що корисно для печінки. Окрім всього, чайний гриб запобігає згубній дії нафтопродуктів, смол, важких металів і пестицидів на організм [31].

### **Гепатозахисні засоби**

Чайний гриб благотворно впливає на здоров'я печінки. Він відновлює рівень антиоксиданту глутатіона і захищає від печінкової токсичності [32,33]

Відомо, [34] що напій «Комбуча» характеризується високим вмістом біоактивних сполук, сильними антиоксидантними та антимікробними властивостями. Факторами, які суттєво впливають на ці дії, є вид чаю та параметри його заварювання, склад SCOBY, а також параметри бродіння.

Біоактивні сполуки, що містяться в чайному грибі, можуть надходити як з чаю (фенольні сполуки, полісахариди, вітаміни, мінерали, амінокислоти), так і з метаболічної активності мікроорганізмів, які беруть участь у ферментації цього напою. До біологічно активних сполук, отриманих за участю мікроорганізмів, належать поліфеноли (у результаті метаболічної активності SCOBY), органічні кислоти, вітаміни, ферменти, білки, такі як бактеріюцини. Кінцева користь продукту для здоров'я залежить від рослинної сировини, а також від консорціуму мікроорганізмів, які використовуються для ферментації [34].

Іванішова та ін. [35] повідомили, що чайний гриб після семиденної ферментації при 22°C, характеризувався більш високим вмістом поліфенолів (412,25 мг GAE / л), ніж настій чорного чаю (180,17 мг GAE / л). Більш того, антиоксидантна активність отриманого напою була також вище: 1318,56 мг TEAC / л (чайний гриб) і 345,59 мг TEAC / л (чай). Також були розглянені результати антимікробної активності Комбучі, що показали сильне інгібування *Candida krusei* ССМ 8271 (15,81 мм), *S. glabrata* ССМ 8270 (16 мм), *S. albicans* ССМ 8186 (12 мм), *S. tropicalis* ССМ 223 14мм), *Haemophilus influenzae* ССМ 4454 (10 мм) і *Escherichia coli* ССМ 3954 (4 мм).

У складі Комбучі було виявлено і мінеральні сполуки. Аналіз мінеральних сполук показав, що кількість необхідних для людського організму елементів - Fe, Mn, Zn і Ni значно збільшилася ( $p < 0,05$ ;  $r = 0,991$ ) в процесі ферментації.

Було проведено також і кількісне визначення органічних кислот, цукрів, алкоголю та рН в Комбучі (таблиця 3.2.), яке показало, що переважає в її складі оцтова кислота (1,55 г/л), за якою слідує винна кислота (0,23 г/л) і лимонна кислота (0,05

г/л). Загальна кислотність приготовленого напою склала 2,5 г/л і рН 3,2. Органолептичні властивості приготованого напою були оцінені найкращою оцінкою смакових якостей (приємний, кисло-фруктовий смак) [35].

У своєму дослідженні [36] Якубчик зі співавторами оцінили антиоксидантну активність та загальний вміст поліфенолів (ТРС) чайного гриба, отриманого шляхом ферментації ( $28 \pm 1$  °С протягом 14 днів) зеленого, чорного, білого та червоного чаїв.

*Таблиця 2.2.*

**Результати кількісного визначення органічних кислот, цукрів, алкоголю та рН у приготовленому з використанням чайного гриба напої**

Параметр	Вміст у чайному напої Комбуча
Загальна кислотність (г/л)	$2,5 \pm 0,17$
Оцтова кислота (г/л)	$1,55 \pm 0,12$
Винна кислота (г/л)	$0,23 \pm 0,05$
Лимонна кислота (г/л)	$0,05 \pm 0,01$
Сахароза (г/л)	$17,81 \pm 1,22$
Глюкоза (г/л)	$9,35 \pm 0,98$
Фруктоза	$1,41 \pm 0,25$
Алкоголь	$0,4 \pm 0,03$
рН	$3,2 \pm 0,14$

Автори [36] виявили, що антиоксидантна активність і ТРС чайного гриба залежить від типу чаю, від часу ферментації, а також від складу SCOBY. Аналіз загального вмісту поліфенолів у чайному грибі, а також у сортах чаю, що використовуються для його приготування, показав, що вміст сполук, що надходять до цієї групи, коливалося в діапазоні від 183,12 мг/л (до додавання SCOBY) до 320,12 мг/л чайного гриба, приготовленого із зеленого чаю на 14-й

день ферментації. Наприклад, для зеленого чаю після 7 днів ферментації ТРС вирівнювався  $299,6 \pm 3,1$  мг ГАЭ / л, а через 14 днів було відмічено  $320,1 \pm 3,5$  мг ГАЭ / мл. З іншого боку, для чорного чаю значення ТРС становили  $219,5 \pm 2,1$  і  $206,0 \pm 1,2$  мг ГАЭ / л на 7 і 14 днів відповідно,

Особливості одержання «Комбучі» за допомогою природного симбіотичного консорціума дріжджоподібних грибів та бактерій (SCOBY) наведено у *таблиці 3.3*, у якій порівняно склад вихідного екстракту чаю, тривалість ферментації та технологічні показники готового продукту, з використанням різного складу культур SCOBY.

Таблиця 2.3.

**Особливості одержання «Комбучі» за допомогою природного симбіотичного консорціума дріжджоподібних грибів та бактерій (SCOBY)**

Продуцент	Склад вихідного чайного екстракту г/л	Тривалість ферментації	Технологічні показники готового продукту			Особливості процесу ферментації	Використана література
			Антиоксидантний потенціал (мг ТАЕС/л)	Загальна кількість поліфенолів (мг GAE/л)	Антимікробна властивість (мм)		
<i>SCOBY-Brettanomyces bruxellensis</i> (O SCL-Y066); <i>Gluconobacter oxydans</i> (OSC L-B027)	Білий цукор – 30 г; Листя чорного чаю – 5 г; Дистильована вода – 1 л.	168 год	1318,56	412,25	<i>Candida krusei</i> - 15,81 мм, <i>C. glabrata</i> – 16 мм, <i>C. albicans</i> – 12 мм, <i>C. tropicalis</i> – 14мм, <i>Haemophilus influenzae</i> - 10 мм, <i>Escherichia coli</i> – 4 мм	T = 22 ° C	Ivanišová E., Meňhartová K., Terentjeva M., Harangozo L., Kántor A., Kačániová M. The evaluation of chemical, antioxidant, antimicrobial and sensory properties of kombucha tea beverage. J. Food Sci. Technol. 2020; 57: 1840–1846. doi: 10.1007/s13197-019-04217-3.
<i>SCOBY-Acetobacter xylinum</i> , <i>Gluconobacter oxydans</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Сахароза – 100 г; Листя зеленого чаю – 8 г; Дистильована вода – 1 л.	336 год	88,23 ± 0,83	320,1 ± 3,5	не виявлена	T = 28 ± 1 °C	Jakubczyk K., Kałduńska J., Kochman J., Janda K. Chemical profile and antioxidant activity of the kombucha beverage derived from white, green, black and red tea. Antioxidants. 2020;9:447. doi: 10.3390/antiox9050447

Згідно порівняльної *таблиці 3.3.*, ми можемо побачити, що антиоксидантна активність чайного гриба різноманітна і залежить від типу і складу чайного настою перед ферментацією і від вмісту SCOBY, що визначає характер метаболітів і продуктів, що утворюються, а також перетворення поліфенольних сполук. Можна зробити висновок, що використання SCOBY, що містить у своєму складі *Brettanomyces bruxellensis* OSCL-Y066 та *Gluconobacter oxydans* OSCL-B027 є доцільнішим, оскільки у даному дослідженні напій з чайного гриба показав вищу кількість мінеральних сполук, таких як залізо, цинк, марганець, антиоксидантну активність, а також загальну кількість поліфенолів у порівнянні з іншим симбіотичним консоціумом.

## 1.4. Технологічні особливості одержання «Комбучі»

### 1.4.1. Мікробіота «Чайного гриба»

Чайний гриб (SCOBY - symbiotic culture of bacteria and yeast) - природний симбіотичний консорціум дріжджоподібних грибів (*Saccharomyces*, *Bretanomyces*, *Candida*, *Schizosaccharomyces*, *Torulaspota*, *Zygosaccharomyces*) та бактерії (*Acetobacter*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Clostridium*), що утворює на поверхні зброджуваних поживних розчинів (екстракт чаю, соки тощо) товсту шкірясту шарово-аморфну плівку чайного гриба (рис. 1.1) [37].



Рис 1.1. Медузоміцет (*Medusomyces Gisevii Lindau*) [37].

Дріжджі чайного гриба перетворюють цукор на спирти та вуглекислоту з паралельним синтезом вітамінів, а бактерії окислюють ці спирти у відповідні кислоти, перетворюючи чайно-цукровий розчин на дуже смачний кисло-солодкий, злегка газований напій з характерним та оцтовокислим ароматом [37].

Згідно літературного джерела [38] відомо, що основна маса своєрідного тіла гриба - зоогля - є величезною колонією оцтовокислої бактерії роду *Acetobacter*. Зоогля цієї культури є продуктом складних біохімічних перетворень вуглеводів і складається з чистої целюлози, а

з'єднує їх гелю з хітіноподібної речовини. Зокрема *Acetobacter xylinum* має здатність синтезувати сітчасті целюлозні структури, що посилюють асоціацію, що виникла між бактеріями та дріжджами. Найпоширеніші продуценти симбіотичного консоціума чайного гриба [39] наведено у таблиці 3.1.

Таблиця 3.1.

**Найпоширеніші продуценти симбіотичного консоціума чайного гриба**

Група мікроорганізмів	Рід та Вид	Літературне джерело
Бактерії	<i>Actinobacteria</i>	Marsh, A. J., O'Sullivan, O., Hill, C., Ross, R. P., & Cotter, P. D. Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple kombucha (tea fungus) samples. Food Microbiology, 2014;38,171–178. doi:10.1016/j.fm.2013.09.003
	<i>Bacteroidetes</i>	
	<i>Deinococcus-Thermus</i>	
	<i>Firmicutes</i>	
	<i>Proteobacteria</i>	
	<i>Gluconacetobacter</i>	
	<i>Lactic acid bacteria (LAB)</i>	Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Chatzinotas, A., Chakraborty, W., Bhattacharya, D., & Gachhui, R. (2016). Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. International Journal of Food Microbiology, 220, 63–72. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2015.12
	<i>Acetic acid bacteria</i>	Podolich, O., Zaets, I., Kukharenko, O., Orlovska, I., Reva, O., Khirunenko, (2017). Kombucha Multimicrobial Community under Simulated Spaceflight and Martian Conditions. Astrobiology, 17(5) doi:10.1089/ast.2016.148017:46
Гриби та дріжджі	<i>Zygosaccharomyces</i>	Coton, M., Pawtowski, A., Taminiau, B., Burgaud, G., Deniel, F., Coulloume-Labarthe, L., Coton, E. Unraveling microbial
	<i>Saccharomycetaceae</i>	
	<i>Dekkera</i>	
	<i>Hanseniaspora</i>	

	<i>Candida</i>	ecology of industrial-scale Kombucha fermentations by metabarcoding and culture-based methods. FEMS Microbiology Ecology, 2017; 93(5). doi:10.1093/femsec/fix048
--	----------------	--

Досліджуючи технологію біосинтезу комбучі, Алан Марш [40] зі співавторами довели, що найефективнішими продуцентами є ті види, які виробляють целюлозу, наприклад *Komagataeibacter xylinus*, яку нещодавно перекласифікували з *Gluconacetobacter xylinus*. Роль дріжджів у ферментації комбучі полягає в перетворенні сахарози до органічних кислот, вуглекислого газу та етанолу, останній потім використовується оцтовокислими бактеріями для утворення ацетальдегіду та оцтової кислоти.

Авторами статті [41] також була досліджена мікробіота чайного гриба і було помічено, що в дріжджовому співтоваристві переважали дріжджі роду *Candida* (73,5-83%). Дане літературне джерело показує, що *Candida* є найбільш домінуючим видом дріжджів під час ферментації чайного гриба. *Komagataeibacter* був ідентифікований як найбільш домінуючий бактеріальний рід, присутній як у біоплівці, так і в комбучі (~50%).

Дослідження, проведені Gaggia et al. [42] показали схожість бактеріального складу при ферментації зеленого, чорного чая та чая ройбуш з домінуванням *Komagataeibacter rhaeticus*. *Gluconacetobacter entanii* був виявлений виключно в чайному грибі з ройбуша. Також були виявлені *Lactobacillaceae*, *Paenibacillaceae*, *Staphylococcaceae*, *Streptococcaceae*, *Lachnospiraceae*. Серед дріжджів були виявлені

представники *Pichiaceae* (*Brettanomyces bruxellensis*) і *Saccharomycetaceae* (*Zygosaccharomyces parabailii*).

## 4.2. Технологія приготування Комбучі

Принципова технологічна схема виробництва напою «Чайний гриб» та його концентрату включає наступні стадії:

1. Чайно-цукровий розчин (ЧЦР) (вміст СВ 8 – 12 %) готують на основі цукрового сиропу, пом'якшеної води, екстрактів натурального чорного, зеленого або білого чаю.
2. Чайно-цукровий розчин пастеризують у пластинчастому пастеризаторі-охолоджувачі при 90-95°C протягом 15-20 хв. У охолоджений ЧЦР вносять за необхідності ростові чинники (вітаміни, каву, витяжку біокультури женьшеню тощо) залежно від стадії процесу.
3. Культуру напою (МКЧГ) готують у лабораторних умовах, дотримуючись всіх правил асептики. МКЧГ із чистої культури культивують поверхневим способом у мікробіологічних чашах при 29...31 °C на стерильному ЧЦР із підвищеним вмістом екстракту чаю та ростових факторів до товщини плівки 4 – 7 мм.
4. На цій стадії здійснюють нарощування плівки гриба (П) та її іммобілізацію на твердий носій. Як носій, наприклад, можуть використовуватися подрібнені до розмірів 2–5x1/2x1–2 см шматочки деревини, наприклад липи, осики або дуба у вигляді циліндричних брусків зі шматків гілок, тріски, стружки тощо, які попередньо зволожені до повного вологонасичення. Готову іммобілізовану П подають у ємності зброджування, бродіння та доброджування напою.
5. Мета процесу зброджування – максимальне та швидке накопичення у напої головних амфіболітів – глюконової кислоти та спирту. Цьому сприяє підвищена температура (28...30 °C), збудження, збільшена кількість чаю та ростових речовин у ЧЦР, низький рівень аерації (5 – 15 % від

максимального рівня парціального тиску розчиненого) кисню ( $mрO_2$ )) з періодичним продуванням  $CO_2$ .

6. Зброджений напій далі піддають головному бродінню, де амфіболіти активно перетворюються на відповідні кислоти (молочну, лимонну, оцтову, яблучну, коєву) та кофеїн. Цьому процесу сприяють вітаміни групи В, знижена температура ( $18-20^{\circ}C$ ) і підвищений рівень аерації ( $20 - 30\%$  від  $mрO_2$ ).

7. У збродженому напої, який надалі піддають концентруванню, все ж таки присутня надмірна кількість спирту (понад  $1,2\%$ ), а вміст кислот не перевищує  $10$  г/л. Процес доброджування, який здійснюється при  $20-22^{\circ}C$  та  $55 - 65\%$  від  $mрO_2$ , нівелює ці показники: залишкова кількість спирту повністю окислюються до оцтової кислоти; при цьому сумарний вміст кислот (СВ) досягає  $17$  г/л. Кінцевий вміст СВ у напої досягає  $7,5 - 8,5\%$ . З метою поліпшення смакових якостей напою в процесі доброджування вносять додаткову кількість цукрового сиропу для ініціації накопичення глюконової кислоти.

8. Далі готову Комбучу освітлюють методом фільтрування та сепарування; при необхідності він нормалізується купажуванням ЧЦР та напоями проміжного бродіння.

9. З метою знищення вегетативної та спорової мікрофлори у готовому концентраті напою проводять його стерилізацію закритим способом за температури  $103^{\circ}C$ .

11. У гарячому вигляді здійснюють розлив Комбучі у споживчу тару [37,42].

## РОЗДІЛ 2. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ

### 2.1. Потреба у цільовому продукті

На сьогоднішній день у світі в цілому, та в Україні зокрема, виросла увага до продуктів харчування, як об'єктів здорового способу життя, здатних корегувати функції та стан здоров'я організму людини. Функціональні продукти харчування, у тому числі напої, призначені позитивно впливати на певні функції організму, поліпшувати загальний стан здоров'я та перешкоджати захворюваності. До функціональних напоїв відносяться спортивні та енергетичні, які домінують у цьому секторі, вітамінні та мінеральні коктейлі, травяні напої, нутріцевтики та пробіотичні напої. Вживання функціональних напоїв має на меті здійснення специфічних харчових функцій або збагачення вітамінами і мінералами щоденного раціону людини. Крім того, слід відмітити, що у період з 2012 року активно розширюється асортимент іноваційних рецептур функціональних напоїв на основі вітчизняної рослинної та тваринної сировини. Так, особлива увага приділяється ферментованим продуктам із застосуванням соків, пектинів, пряно-ароматичної сировини, молочної сироватки тощо [43].

Ферментованими напоями називають продукти харчування, у технології виробництва яких використовуються мікроорганізми із високою біологічною активністю. У процесі життєдіяльності мікроорганізми зброджують вуглеводи, утворюючи різноманітні органічні речовини - продукти метаболізму, такі як органічні кислоти (оцтова, молочна, яблучна, глюконова), вітаміни, амінокислоти, ефіри, антибіотичні речовини тощо.

					НУХТ БТЕК 02.01.16		КР ПЗ	
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Вавілова А.І.			РОЗДІЛ 2. Техніко- економічне обґрунтування	Літ.	Арк.	Акрушів
Перевір.		Красінко В.О.					29	3124
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Тим самим в процесі ферментації в напоях зменшується калорійність продукту, збільшується засвоюваність поживних речовин та підвищується біологічна цінність. Так, молочна кислота сприяє створенню кислого середовища у шлунково-кишковому тракті, що, у свою чергу, позитивно впливає на ріст нормальної мікрофлори людини (лакто- та біфідобактерій).

На сьогодні розповсюдженими біологічними агентами для виготовлення ферментованих функціональних напоїв на основі рослинної сировини є молочнокислі бактерії (лактобактерії - *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacterium plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacterium casei*, *Lactococcus lactis*, біфідобактерії - *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*), дріжджі - *Saccharomyces cerevisiae*, пропіоновокислі та оцтовокислі бактерії [44].

Також здавна відомі ферментовані напої серед яких особливо поширеними є хлібний квас, чайний гриб, рисовий гриб, кефірний гриб, ферментовані на основі сорго та ін. Ці напої відрізняються своєю основою, складом закваски та смаком. Об'єднує їх те, що вони є напоями бродіння, які відносяться до натуральних продуктів функціонального призначення, здатних підвищувати загальний стан здоров'я людини та поліпшувати діяльність організму. Технологія таких напоїв базується на використанні натуральної сировини та мікроорганізмів визначеного складу. При їх життєдіяльності утворюється комплекс цінних і корисних для організму людини біологічно активних речовин, зокрема органічні кислоти, амінокислоти, вітаміни, ферменти тощо [45,46].

В Україні та світі популярним є ферментований напій із тривіальною назвою "чайний гриб", при приготуванні якого чайно-цукровий розчин зброджують симбіотичною полікультурою мікроорганізмів *Medusomyces gisevii*, яка містить дріжджі та оцтовокислі бактерії. Останні під час життєдіяльності продукують органічні кислоти (оцтову, молочну,

глюконову, койєву), вітаміни С, групи В, амінокислоти, ферменти та інші біологічно активні сполуки [45].

У «Комбучі» багато вітамінів групи В та мінералів, які необхідні для нормальної роботи нервової системи та здоров'я м'язів. Дієтологи вважають, що комбуча як і інші ферментативні продукти, корисні для здоров'я кишечника завдяки пробіотикам, що містяться в напої. Тому розчин гриба вважають перспективним для профілактики та лікування хвороб, які розвиваються внаслідок дисбактеріозу [47,48].

### **Чайний гриб корисні властивості**

**Міцний імунітет.** Комбуча багата високим вмістом антиоксидантів, що збільшує енергію тіла і підтримує імунну систему. Якщо вживати напій щодня, функції захисту організму значно покращують. До того ж, ризики розвитку аутоімунних захворювань значно скоротяться [48,50]

**Детоксикація.** Чайний квас має здатність до очищення організму. Ферментований чай містить потужний детоксикант глюкуронову кислоту, який знешкоджує токсини в печінці і виводить їх. Це також знижує навантаження на підшлункову залозу, що корисно для печінки.

Окрім всього, чайний гриб запобігає згубній дії нафтопродуктів, смол, важких металів і пестицидів на організм [51,52]

**Антиоксидантна дія.** Чай рясніє потужними органічними кислотами, які захищають організм від окислювального ушкодження. Антиоксиданти комбучі видивляються вільні радикали кисню і нейтралізують їх дії. Таким чином, якщо вживати ферментований напій, це захистить організм від серйозних захворювань і запалень.

**Гепатозахисні засоби.** Чайний гриб благотворно впливає на здоров'я печінки. Він відновлює рівень антиоксиданту глутатіона і захищає від печінкової токсичності.

**Антимікробний ефект.** Протимікробні властивості напою активно борються з харчовими патогенами. Вони забезпечують захист від цілого

ряду мікроорганізмів, що негативно впливають на здоров'я людини. Приміром є: епідермальний стафілокок, синегнойна паличка, сальмонельоз [53,54].

### **Розрахунок потужності виробництва**

Сьогодні комбуча завойовує ринки прохолодних напоїв всього світу. За прогнозами, до 2022 року глобальний грошовий обсяг ринку комбучі досягне 2,5 млрд доларів США. Напій позиціонується як здорова альтернатива пиву та коли, що володіє пробіотичними властивостями і зміцнює імунітет.

За даними опитування проведеного Соціологічною групою відомо, що 66% українців вживають алкогольні напої. 33% вживають його рідше, ніж раз на місяць, 26% - кілька разів на місяць, 4% - кілька разів на тиждень, 1% - кожного дня. Попри це 32% опитаних взагалі не вживають алкогольних напоїв. Найпопулярнішими алкогольними напоями серед опитаних, які вживають алкоголь, є вино (36%) і пиво (29%) [55].

У зв'язку з тим, що вживання алкоголю призводить до порушень травного тракту, печінки, серця, кровоносних судин, нервової системи та інших органів людини, актуальним є виготовлення безалкогольних напоїв на основі заквасок, що здатні підвищувати загальний стан здоров'я людини та поліпшувати діяльність організму.

Відомо, що ферментація Комбучі відбувається не лише з використанням чаю, як сировини. На ряду з чорним і зеленим чаєм для виготовлення такого напою використовуються різноманітні добавки, зокрема соки плодів і ягід тощо. Прикладом слугує Комбуча з використанням у якості сировини виноградного соку. У ягодах винограду міститься від 2,5 до 6% вільних і зв'язаних у вигляді солей органічних кислот. 60% яблучної кислоти, 40% – винної, глюконової, лимонної, бурштинової, щавлевої. Також виноградні ягоди містять необхідні для організму людини мінеральні солі та мікроелементи. Більше 60% всіх

зольних елементів складає калій, який покращує роботу серця і нирок. У 100 г виноградного соку міститься: 6-98 мг марганцю, 5-12 мг магнію, 16-22 мг нікелю, кобальт, алюміній, кремній, цинк, бор, хром і ін. Вони часто є структурними елементами ферментів, гормонів, вітамінів, білків і ряду важливих органічних комплексів [56].

Порівнюючи дієти в західних країнах, дослідники [56] виявили, що хоча вони, як правило, споживають більш високий рівень тваринного жиру, на диво, частота серцево-судинних захворювань залишається низькою. Вчені припускають, що це виникає через регулярне вживання виноградного вина. Фітохімічні речовини виноградного соку (GJ), такі як ресвератрол, сприяють зменшенню цукру в крові, захищають серцево-судинну систему, регулюють імунітет, покращують роботу скелетних м'язів та мозку. Кількість ресвератролу в шкірці ягід винограду збільшується в процесі ферментації. А це означає, що червоне вино має більший вміст даного антиоксиданту. Однак, необхідно враховувати вплив спиртного на печінку та загальний стан людського організму.

Саме тому, виготовлення Комбучі з використанням виноградного соку у якості сировини, є актуальним та перспективним виробництвом. Оскільки даний напій буде мати не лише високі антиоксидантні, дієтичні та протизапальні властивості, а й використовуватися в ролі «еліксиру молодості», який нейтралізує дію вільних радикалів, що накопичуються в людському організмі з віком та призводять до руйнування клітинної структури, погіршення роботи тканин і органів, та передчасного старіння [55].

Потребу у напої «Комбуча» будемо розраховувати на населення Херсону, що налічує, на даний момент **279 131 – людей**. Для цього порахуємо необхідну кількість напою для забезпечення даної частини України.

Враховуючи те, що «Комбуча» це новий, нестандартний напій, припустимо, що його буде вживати 4% населення. Тоді кількість споживачів буде становити:

$$279\ 131 - 100\%$$

$$X \quad - \quad 4\%$$

$$X = \frac{279\ 131 \times 4}{100} = 11165 \text{ людей будемо забезпечувати Комбучею}$$

Пляшечка прохолодного напою становить – 0,33 л. Припускаємо, що споживачі будуть вживати даний напій мінімум 1 раз на тиждень, тоді кількість напою буде становити:

$0,33 \times 1 \times 11165 = 3684,45$  л необхідно для забезпечення даної кількості споживачів.

За результатами аналізу у літературному джерелі [56] виявилось, що найменша маса консорціуму *Medusomyces gisevii* V склала 112,43 г/л, а найбільша – 478,15 г/л після 14-денного бродіння. Тоді кількість біомаси, необхідна для культивування 3702,6 л Комбучі буде становити:

$$478,15 - 1 \text{ л}$$

$$X - 3684,45 \text{ л,}$$

$$x = \frac{478,15 \times 3684,45}{1} = 1761720 \text{ г або } 1761,720 \text{ кг}$$

Враховуючи всі сумарні витрати на виробництві (10%) необхідно отримати таку кількість напою:

$$V_{\text{кр}} = 3684,45 / 0,90 = 4094 \text{ л або } 4,094 \text{ м}^3 \text{ культуральної рідини/}$$

$$\text{Отже, потужність виробництва становить } 4,094 \text{ м}^3$$

**Розрахунок кількості виробничих циклів та геометричного об'єму ферментера для культивування *Medusomyces gisevii* V**

Для забезпечення потреби Комбучі в Херсоні, необхідно виробляти 4094 л культуральної рідини.

1) Кількість продукту на добу. Прийнемо кількість робочих трудоднів ( $T_{рд}$ ) 121 (сезон активного споживання), тоді кількість продукту на добу ( $V_d$ ) становитиме:

$$V_d = V_{кр}/T_{рд} = 4094 / 121 = 34 \text{ л}$$

2) Розрахуємо кількість культуральної рідини за один цикл, ( $V_{кр}$ ):

$V_{кр0} = K_1 * V_d * T_{цф} / 24 = (1,1 * 34 * 346) / 24 = 540 \text{ л/цикл}$  де,  $T_{цф}$  – цикл роботи ферментера (346 год), що включає час біосинтезу (336 год), та час підготовки ферментера – 10 год. Підготовка ферментера включає: миття та огляд – 2 год, перевірка на герметичність – 2 год, стерилізація – 2 год, охолодження – 1 год, завантаження середовища – 1,5 год, засів – 0,5 год, відвантаження культуральної рідини – 1 год;  $K_1$ - коефіцієнт запасу, що враховує ймовірність нестерильних операцій (1,1 - 1,5).

3) Об'єм готового поживного середовища та посівного матеріалу у виробничому ферментері з врахуванням втрат при біосинтезі  $E_f = 0,1$  становить:

$$V_f = V_{кр} / (1 - E_f) = 540 / (1 - 0,1) = 600 \text{ л або } 0,600 \text{ м}^3$$

4) Геометричний об'єм ферментера для отримання  $0,600 \text{ м}^3$  культуральної рідини, з коефіцієнтом заповнення 0,6 має становити:

$$V_r = V_f / K_{зап} = 600 / 0,6 = 1000 \text{ л. Найближчий ферментер } 1 \text{ м}^3.$$

Перевіряємо коефіцієнт заповнення:  $K_z = 600 / 1000 = 0,6$ , що не перевищує заданого значення.

Кількість циклів за рік:

$$N_{цк} = V_d / V_{крц} = 4094 \text{ л} / 540 \text{ л} = 7,58 \approx 8 \text{ циклів/рік}$$

### **Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу**

За виробничий цикл отримують  $V_{кр} = 0,54 \text{ м}^3$ . При одержанні культуральної рідини необхідно врахувати її втрати в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря, які становлять від 10-15%. Отже, кількість поживного середовища та посівного матеріалу перед виробничим біосинтезом для одного ферментера буде становити:

$V_{\text{роб.1}} = V_{\text{кр}} / (1 - E_{\text{ф}}) = 0,54 / (1 - 0,1) = 0,6 \text{ м}^3$  або 600 л, де  $E_{\text{ф}}$  – втрати культуральної рідини під час біосинтезу.

Виробничий біосинтез здійснюють у ферментері робочий об'єм якого:  $V_{\text{роб.1}} = 1000 \text{ м}^3$ . При вибраному коефіцієнті заповнення 0,6, розраховуємо можливий геометричний об'єм ферментера ( $V_{\text{ф}}$ ), що становить:

$V_{\text{ф}} = V_{\text{роб.1}} / K_{\text{зап}} = 600 / 0,6 = 1000 \text{ л}$  або  $1 \text{ м}^3$ , уточнюємо прийнятий коефіцієнт заповнення:  $K_{\text{зап1}} = V_{\text{роб.1}} / V_{\text{сф}} = 600 / 1000 = 0,6$ . Цей коефіцієнт заповнення перебуває у вибраних межах, отже геометричний об'єм ферментера вибрано вірно.

Кількість посівного матеріалу для ферментера становить 10% від об'єму поживного середовища. Тоді кількість поживного середовища в ферментері буде становити:  $V_{\text{пс1}} = V_{\text{роб.1}} / (1 + X_{\text{ф}}) = 600 / (1 + 0,1) = 545,5 \text{ л}$ , де  $X_{\text{ф}} = 0,1$  доза посівного матеріалу для ферментера.

Кількість посівного матеріалу становить:  $V_{\text{пм1}} = V_{\text{роб.1}} - V_{\text{пс1}} = 600 - 545,45 = 54,5 \text{ л}$ .

Для одержання 54,5 л інокуляту в посівному апараті враховуємо втрати в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря, які становляться від 10 до 15%. Тоді кількість поживного середовища та посівного матеріалу в посівному апараті становити:  $V_{\text{роб.2}} = V_{\text{пм1}} / (1 - E_{\text{па}}) = 54,55 / (1 - 0,1) = 60,5 \text{ л}$

Кількість посівного матеріалу становить 10% від об'єму поживного середовища. Тоді кількість поживного середовища в посівному апараті буде становити:  $V_{\text{пс2}} = V_{\text{роб.2}} / (1 + X_{\text{па}}) = 60,5 / (1 + 0,1) = 55 \text{ л}$ , де  $X_{\text{па}} = 0,1$  – доза інокуляту для посівного апарату. Кількість посівного матеріалу для посівного апарату становить:  $V_{\text{пм2}} = V_{\text{роб.2}} - V_{\text{пс2}} = 60,5 - 55 = 5,5 \text{ л}$ .

Кількість інокуляту  $V_{\text{роб.2}} = 60,5 \text{ л}$  можна одержати під час культивування *Medusomyces gisevii* V у посівному апараті геометричний

об'єм якого  $V_{па2} = V_{роб.2} / K_{зап} = 60,5 / 0,6 = 100$  л , уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:  $K_{з2} = V_{роб.2} / V_{сф} = 60,5 / 100 = 0,605$

Для одержання 5,5 л посівного матеріалу в інокуляторі враховуємо втрати в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря, які становлять від 10% до 15%. Тоді кількість поживного середовища та посівного матеріалу перед культивуванням в інокуляторі становитиме:  $V_{роб.3} = V_{пм2} / (1 - E_{ін}) = 5,5 / (1 - 0,10) = 6$  л

Кількість посівного матеріалу становить 10% від об'єму поживного середовища . Тоді кількість поживного середовища в посівному апараті буде становити:  $V_{пс3} = V_{роб.3} / (1 + X_{па}) = 6 / (1 + 0,1) = 5,45$  л , де  $X_{па} = 0,1$  – доза інокуляту для посівного апарату. Кількість посівного матеріалу для посівного апарату становить:  $V_{пм3} = V_{роб.3} - V_{пс3} = 6 - 5,45 = 0,55$  л.

Кількість інокуляту  $V_{роб.3} = 6$  л можна одержати під час культивуванні у посівному апараті геометричний об'єм якого  $V_{па2} = V_{роб.2} / K_{зап} = 6 / 0,6 = 10$  л , уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:  $K_{з3} = V_{роб.2} / V_{сф} = 6 / 10 = 0,6$

Кількість інокуляту для засіву малого інокулятора  $V_{пм4} = 550$  мл можна одержати під час культивування *Medusomyces gisevii* V колбах на качалці. Для цього використовують качалочні колби об'ємом  $V_{колб} = 1000$  мл та коефіцієнтом заповнення 0,2. Тоді кількість колб для отримання посівного матеріалу становитиме:  $N_{колб} = V_{пм5} / (V_{колб} \times K_{зк}) = 550 / (1000 \times 0,2) = 2,75$ . Таким чином, для одержання посівного матеріалу необхідно 3 качалочні колби.

Отже, процес одержання посівного матеріалу для забезпечення виробничого біосинтезу лимонної кислоти у одному ферментері об'ємом 1 м<sup>3</sup> з коефіцієнтом заповнення 0,6 буде проходити у 4 етапи.

## 2.2. Обґрунтування способу культивування

Чайний гриб можна приготувати з попередньо ферментованого бульйону або ферментованого чаю з пелікулою. Роблячи висновки з попередніх розділів, можна констатувати, що час бродіння Комбучі може відрізнятися приблизно до двох місяців. Завдяки різній тривалості бродіння забезпечується різноманітний смак і аромат. Наприклад, чайний гриб при тривалому бродінні (60 днів) має оцтовий присмак [56].

Наявність дріжджів у комбучі підтверджує гідроліз сахарози до інших моносахаридів, на наступному етапі дріжджі можуть метаболізувати їх до етанолу. Потім етанол окислюється до оцтової кислоти оцтовокислими бактеріями. Оскільки оцтовокислі бактерії не мають ферментів позаклітинного гідролізу, вони не здатні поглинати лише сахарозу [57].

Дослідники стверджують, що ферментація чайного гриба не обмежується використанням підсолодженого чорного чаю. Вони зазначають, що субстрати такі як виноградний сік, трав'яний, зелений або фруктовий чай, можна використовувати для ферментації Комбучі. У деяких випадках вони припускали, що дані субстрати є більш ефективними, ніж звичайний чай [58].

Раніше для виробництва чайного гриба дослідники застосовували метод поверхневого культивування. Однак цей метод має ряд обмежень, таких як: дороговартісне обладнання, низький вихід продукту, а також складний і довготривалий процес. Процесу глибинного культивування на сьогоднішній день надають значну увагу. Саме тому, що ферментація проходить у асептичних умовах та швидкість ферментації є високою. Також даний спосіб виробництва має ряд суттєвих переваг: він ефективніший, легко піддається механізації та автоматизації [58].

Кілька факторів, таких як тривалість ферментації, тип субстрату, рН і температура, можуть вплинути на кінцевий продукт. Низьке значення рН

під час ферментації спричиняє корозію, тому внутрішня частина біореактора виготовляється з нержавіючої сталі. Оптимальна температура підтримується протягом усього процесу ферментації, що призводить до кращої активності ферментів і росту мікроорганізмів, а також покращення процесу ферментації. Температурні значення бродіння чайного гриба - від 20°C до 30°C [58,59].

Згідно літературного джерела [59] відомо, що температура є найбільш критичним фактором під час процесу бродіння. Тому, що в діапазоні температур від 37°C до 42°C можна досягти найвищої антиоксидантної дії. Крім того, відомо, що з підвищенням температури в отриманих зразках збільшується кількість вітаміну С і утворених кислот, а також метаболітів.

Ферментація чайного гриба триває від 7 до 60 днів, і в даному діапазоні органолептичні показники напою посилюються. Проте, бажані результати отримують лише через 10-14 днів [60].

Незважаючи на те, що більшість досягнутих антиоксидантних властивостей були посилені з часом інкубації, тривала ферментація не пропонується через накопичення органічних кислот, які можуть бути шкідливими для прямого використання. Крім того, вироблений CO<sub>2</sub> може почати накопичуватися на стику напою і біоплівки, що може стати причиною непоступання поживних речовин і зіпсувати середовище [61,62].

Отже, хімічні та органолептичні показники напою Комбуча значною мірою залежать від використовуваної симбіотичної культури, температури, часу ферментації та поживного середовища.

### **2.2.1. Обґрунтування вибору стадії підготовки повітря**

На підприємстві проводиться підготовка стисненого аераційного повітря для одержання посівного матеріалу в лабораторіях та на виробництві. Постачання кисню має вплив на розвиток SCOBY, тому

вирощування культури має відбуватись із доступом до кисню. Також необхідною умовою для вирощування продуцента є асептичність, тому, повітря, яке подається, має бути стерильне [63].

Навіть незначна кількість сторонньої мікрофлори в повітрі може призвести до контамінації. Споживання повітря досягає 80 м<sup>3</sup>/год. У повітрі є пил з концентрацією 5-100 мг/м<sup>3</sup>, що складає 10<sup>6</sup>-10<sup>8</sup> твердих частинок розміром 5-150 мкм. Мікроорганізми осаджуються на пилу або знаходяться у вільному стані [64].

Для стерилізації повітря використовують два методи: знищення мікрофлори за допомогою нагрівання або іонізуючого випромінювання, наприклад, за допомогою УФ-опромінювання, та вилучення її методом фільтрування. Перший метод є більш надійним та ефективним, але для промислових масштабів є неприйнятним, оскільки у виробничих умовах витрачають занадто великі об'єми повітря, щоб можна було б говорити про економічну доцільність таких рішень. В промислових умовах використовують в основному метод фільтрування крізь шари насипного, пористого або волокнистого матеріалу [64,65].

Повітря для вирощування посівного матеріалу стерилізують за допомогою фільтрів грубої очистки, тонкої очистки та індивідуальних фільтрів. Фільтр грубої очистки має ефективність фільтрації від 65% до 90%, використовується в якості першого ступеня очищення та призначений для затримки великих механічних частинок розміром більше 5 мкм. Основними вимогами до фільтрувальних волокон є висока пилоємність і здатність до ефективного функціонування за малих перепадів тиску до і після фільтра [64,65].

В якості фільтра грубої очистки використовуємо фільтр F 0010 DF, він має високу пропускну здатність - 1170 л/хв та має у своїй конструкції керамічний картридж на якому осідають мікрочастинки, які потім

видаляються через конденсатовідвідник. Керамічний матеріал картриджа сприяє довготривалому використанню фільтра [66,67].

Фільтр тонкої очистки повітря використовують у якості другого ступеня очищення, він призначений для затримки мікрочастинок розміром 0,01 мкм. В якості фільтра тонкої очистки використовуємо фільтр ОМІ 04А.0180 потужністю 3000 л/хв, що сприяє високоефективному фільтруванню [67]. В якості індивідуальних фільтрів використовуємо Ultradept II P-SRF, ступінь очищення повітря фільтром становить 99,999 % [68].

### **2.2.2. Вибір мийних та дезінфікуючих засобів**

Санітарна підготовка приміщень — один з найважливіших заходів щодо забезпечення чистоти. Ціль такої обробки — зведення до мінімуму механічних і мікробних забруднень. Дезінфекція поверхонь приводиться, як правило, до зниження мікроорганізмів на 40—60% від їхнього вихідного вмісту [69]. В харчовій промисловості очищення та дезінфекція є важливою частиною виробничого циклу. Ці дії можуть мати руйнівні наслідки, якщо не будуть виконані належним чином. Саме вони є базою для гарантії безпеки кінцевого харчового продукту [69].

Вид миючого засобу визначає його склад і його здатність справлятися з різними типами забруднення, тому в першу чергу потрібно звернути увагу на те, який тип забруднення потрібно видалити - органічне (жири, рослинні масла, кров і т.п.) або неорганічне (вапно, іржа, молочний камінь і т.п.).

З органікою найкраще справляються:

Засоби на основі каустичного лугу. Основна складова подібної побутової хімії - це гідроксид натрію, з додаванням поверхнево-активних речовин, ароматизаторів і барвників. Використовувати подібні засоби варто вкрай обережно, надягаючи захисні рукавички та в окремих випадках побутовий респіратор.

Для боротьби з неорганічними забрудненнями підійдуть:

Кислотні засоби. Основним миючим елементом в їх складі є фосфорна кислота, яка при змішуванні з хлорвмісними речовинами утворює небезпечний для здоров'я газоподібний хлор. Тому, перед тим як використовувати кілька засобів одночасно, необхідно перевіряти склад кожної упаковки. Універсальним варіантом є нейтральні миючі засоби. Являють собою суміш поверхнево-активних речовин універсального використання. Вони безпечніші для здоров'я людини та в залежності від складу подібного засобу, зможуть впоратися з будь-яким типом забруднення [70].

Варто зазначити, що основними критеріями вибору миючих засобів є їх ціна, миюча здатність та безпечність для використання, оскільки більшість використовуваних синтетичних миючих засобів містять небезпечні речовини, які негативно впливають на здоров'я споживачів та навколишнє середовище. Їх небезпека полягає у важкому вимиванні небезпечних сполук та поганій біологічній розкладності [71,72].

На будь-якому виробництві не допускається тривале застосування одного дезінфікуючого засобу, оскільки це може призвести до утворення резистентних штамів мікроорганізмів, тому слід періодично комбінувати дезінфікуючі засоби. Рекомендують дезінфікуючий засіб змінювати кожні 10–14 днів або застосовувати декілька типів. Різні об'єкти, що підлягають дезінфекції, зумовлюють потребу у використанні різних методів і засобів для їхнього знезараження.

Засіб дезінфікуючий «Alsoft V» діючою речовиною якого є спирт етиловий у межах 76,9 - 81,4 % , призначений для дезінфекції шкіри персоналу підприємств харчової і харчопереробної промисловості, має широкий спектр антимікробної дії по відношенню до транзитної і резидентної мікрофлори. Активний до бактерій включаючи *Mycobacterium*

*terrae, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Staphylococcus aureus*; грибів роду *Candida*, вірусів – герпесу, грипу (H1N1, H5N1), ротавірусу, ріновірусу, коронавірусу (BCV).

«Alsoft V» згідно з ГОСТ 12.1.007-76 належить до малонебезпечних речовин при нанесенні на шкіру та при введенні у шлунок (4 клас небезпеки); шкірноподрозднювальна та сенсibiliзуюча дія відсутня; в нативній формі спричиняє подразнення слизової оболонки очей. У насичуючих концентраціях, що можуть створюватись у приміщенні під час дезінфекції рук медичного персоналу, засіб не подразнює слизову оболонку верхніх дихальних шляхів та очей [73].

Дезінфекційний засіб “Тонік антисептичний „Біоцид плюс” – діючою речовиною якого є 0,5% полігексаметиленгуанідин гідрохлорид, виявляє бактерицидні, віруліцидні та фунгіцидні властивості. Засіб володіє пролонгованою дезінфікуючою дією на шкірі протягом 6 годин або до першого миття рук. Функціональні добавки зумовлюють виражену місцеву протизапальну та ранозагоюючу дію, пом’якшують та живлять шкіру, забезпечують її зволоження та еластичність, зберігають нейтральний рН шкіри. Засіб “Тонік антисептичний „Біоцид плюс” за діючою речовиною згідно з ГОСТ 12.1.007 при пероральному надходженні та при нанесенні на шкіру відповідає 4 класу малонебезпечних речовин. Засіб не має шкірноподрозднюючих, шкірно-резорбтивних, кумулятивних, мутагенних та канцерогенних властивостей, не виявляє ембріотоксичної, тератогенної та алергенної дії. Довгострокове застосування засобу нанесенням на шкіру не впливає на картину крові та її біохімічні показники [74].

Отже, як дезінфікуючі засоби для персоналу будуть використовуватися такі антисептики, як «Alsoft V» та «Біоцид плюс». Обидва засоби мають широкий спектр дії, гарний дезінфікуючий ефект, є безпечними для людини і відносно дешевими.

Згідно з методичними рекомендаціями щодо підготовки виробничих приміщень, наказ МОЗ України від 14.12.2001 №502 на 1 м 2 затрачається приблизно 100 мл робочого розчину мийного чи дезінфікуючого засобу [72,74].

Для обробки приміщень, повітроводів, обладнання економічно вигідним варіантом є розчин перекис водню. Розчин не має запаху, розпадається на воду і атомарний кисень, який викликає окислення хімічних компонентів мікробних клітин. Недоліком є те, що перекис водню є сильним окисником, що ушкоджує об'єкти з заліза, хрому, свинцю, срібла, марганцю, чавуна, міді, латуні, нелегірованих і низьколегірованих сталей. Не сумісна з лугами. Перекис водню відноситься до високонебезпечних речовин (2 клас небезпеки по ГОСТ 12.1.007). Подразнює шкіру, слизову оболонку очей та верхніх дихальних шляхів. Саме тому використання такого дезінфікуючого засобу не є доцільним.

Біоактивний миючий засіб «Міродез універ» який у своєму складі має комплекс ЧАС, гліюксаль, синергисти біоцидів. Виявляє антимікробну властивість щодо бактерії (включаючи збудників туберкульозу, тестували на *M.terraе.*), віруси (тестовано на вакцині поліовірусу 1 типу), патогенні гриби. На вигляд цей розчин являє собою прозору рідину, яка може мати відтінок жовтуватого кольору. Що стосується запаху, то він досить легкий і приємний. До розчину «Міродез універ» інструкція вказує, що засіб за ступенем токсичної дії відноситься до класу № 3 помірно небезпечних речовин при попаданні в людський шлунок. Також це засіб відноситься і до класу № 4 малонебезпечних коштів по впливу на шкірний покрив і у вигляді пари. Термін зберігання «Міродез» безпосередньо залежить від того, в якому стані знаходиться ємність. Іншими словами, якщо розчин запечатаний, то зберігають протягом 5 років. У разі, коли ємність була відкрита, то розчин необхідно використовувати протягом двох тижнів.

Далі його застосування буде недоцільним. «Міродез універ» зберігають в прохолодному місці, добре захищеному від сонця при температурі від 0 і до +35 градусів [75].

Дезінфікуючий засіб «ЕСТЕР ДЕЗ» використовують для проведення дезінфекції технологічного устаткування (резервуарів, ємностей, теплообмінників, ферментерів) та трубопроводів. Основною діючою речовиною є надоцтова кислота у межах 8,0 - 16,0 %. Ефективно діє проти мікроорганізмів і вірусів при низьких температурах і нетривалому часі впливу (15-30 хв.). Володіє сильною бактерицидною активністю по відношенню до спороутворюючих бактерій, кишкової палички, дріжджів в 0,015-0,1% концентрації по НОК. Резистентність мікроорганізмів до дезінфікуючого засобу відсутня. Дезінфікуючий засіб «ЕСТЕР ДЕЗ» екологічно безпечний, після застосування розкладається на кисень, воду та оцтову кислоту [76].

Каустична сода також є ефективною для миття жирних поверхнь, для миття білкових залишків, залишків солей чи мікроорганізмів, та продуктів їх життєдіяльності. Недоліком є те, що каустична сода є шкідливою для людини (2 клас небезпеки за ГОСТ 12.1.007). При попаданні на шкіру викликає хімічний опік. Подразнює слизову оболонку очей та верхніх дихальних шляхів. Використовувати дану речовину для миття обладнання недоцільно, адже вона є небезпечною [77].

Отже, проаналізувавши вищесказане, для миття обладнання доцільніше буде використовувати Дезінфікуючий засіб «ЕСТЕР ДЕЗ», а для миття стін, підлоги та дверей - «Міродез», оскільки вони є економічно вигідними для промислового виробництва, безпечними для персоналу та входять у Державний Реєстр дезінфекційних засобів станом на 2020 рік, що означає – відповідають усім вимогам та критеріям.

### **2.2.3. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища**

В попередніх пунктах було показано, що необхідним є підтримання асептичних умов культивування, тому є необхідним проведення стерилізації поживного середовища, посуду, інструментів та деяких пристроїв. Це робиться з метою недопущення розвитку сторонніх мікроорганізмів при роботі з досліджуваними культурами. Метою стерилізації є повне знешкодження матеріалу від вегетативних клітин мікроорганізмів та їх форм спокою [78].

Найбільш поширений та надійний спосіб стерилізації є стерилізація насиченою парою під тиском. Проводять за допомогою автоклавів, металевих резервуарів, що герметично закриваються і здатні витримувати високий тиск [78].

До складу поживного середовища для вирощування чайного гриба входить виноградний сік та сахароза, тому в нас буде лише одна композиція (залежно від режиму стерилізації компонентів)

**Композиція А:** Виноградний сік, окрім доданої сахарози, має у своєму складі багато цукрів. Тому дана композиція потребує м'якого режиму стерилізації для запобігання карамелізації при високій температурі. Стерилізація даної композиції буде проходити при температурі 112°C і тиску 0,05 МПа, впродовж 30 хв.

#### **Підготовка і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту у колбах на качалці**

Для отримання посівного матеріалу у колбах на качалках потрібно 550мл середовища, тому стерилізація компонентів буде відбуватися у автоклаві. Як було сказано раніше, виноградний сік із сахарозою потребує м'якого режиму стерилізації, оскільки дана композиція є термолабільною. Тому, проаналізувавши склад поживного середовища для вирощування *Medusomyces gisevii*, стерилізація компонентів буде проходити таким чином:

**Композиція А:** Виноградний сік та сахароза(112°C і тиску 0,05 МПа, впродовж 30 хв).

#### **Вирощування інокуляту в інокуляторі об'ємом 10 л.**

Оскільки для даної стадії біосинтезу потрібно 6 л поживного середовища, стерилізувати його можна у автоклаві. Склад композицій та умови їх стерилізації аналогічно попередньому підпункту.

#### **Підготовка і стерилізація поживного середовища для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі об'ємом 100 л**

На даному етапі необхідно одержати 55 л поживного середовища. Приготування виноградного розчину з сахарозою та його стерилізація (**Композиція А**), буде відбуватися в призначеному для цього реакторі-змішувачі з робочим об'ємом 100 л при температурі 112°C і тиску 0,05 МПа, впродовж 30 хв.

#### **Приготування та стерилізація середовища для виробничого біосинтезу у ферментері 1 м<sup>3</sup>**

Для даної стадії біосинтезу потрібно 545,5 л поживного середовища. З економічної точки зору доцільніше для стерилізації такої кількості поживного середовища застосовувати реакторі-змішувачі при температурі 112°C і тиску 0,05 МПа, впродовж 30 хв. Після цього середовище переноситься в ферментер об'ємом 1 м<sup>3</sup> для виробничого біосинтезу.

### **2.3. Обґрунтування стадій виділення і очищення цільового продукту**

Культуральна рідина містить, як цільовий продукт так і клітини продуцента. Виділення Комбучі відбується традиційним та досить легким способом, включаючи в себе такі етапи:

1. Фільтрування розчину
2. Карбонізація та зберігання готового напою «Комбуча» у форфасах
3. Розлив та маркування напою

### 2.3.1. Фільтрування розчину

Культуральна рідина після біосинтезу містить, окрім готового напою комбуча, біомасу продуцента і продукти його життєдіяльності. Тому першим етапом в технології виділення цільового продукту є відділення біомаси продуцента. Існує велика кількість способів відокремлення біомаси продуцента від рідкої суспензії середовища, зокрема такі як осадження, фільтрування, флотація, центрифугування та сепарування [79].

Сепарування використовується при розділенні, концентруванні, очищенні, прояснюванні та для поетапної обробки рідини, наприклад, послідовного відділення грубодисперсного осаду від тонкодисперсних суспензій. Істотним недоліком даного способу є те, що швидко забиваються мундштуки та між тарілчастий простір механічними включеннями й мертвими клітинами бактерій.

Центрифугування. Відділення біомаси на звичайних центрифугах ускладнене, оскільки для перероблення рідин на центрифугах потрібно, щоб концентрація дисперсної фази була не менше ніж 5 % (для центрифуг періодичної дії) або 10 % (для центрифуг безперервної дії), а вміст біомаси в КР не перевищує, як правило, 1...4%. У порівнянні з іншими методами відділення має такі переваги:

- швидке відокремлення біомаси
- здійснюється максимальне відділення культуральної рідини від біомаси та залишків компонентів поживного середовища;
- висока продуктивність;
- застосування для суспензій із високою концентрацією твердих частинок в середовищі
- відносно низька тривалість процесу;
- можливість варіювати розмір розділювальних часток [79].

У результаті центрифугування виходить осад з деяким вмістом рідкої фази та освітлена рідина, що називається фугатом. Даний метод потребує

більш дорогого устаткування, ніж фільтрування. Тому він виправдовує себе, якщо: а) суспензія фільтрується повільно; б) поставлене завдання максимального звільнення культуральної рідини від клітин [80].

Фільтрація – пропускання суспензії через фільтруючий матеріал, під дією різниці тисків рідина проходить через пори і збирається у вигляді фільтрату, а тверді частинки – біомаса, на фільтруючій мембрані. Фільтрація через тканинні фільтри проводиться для частинок розміром від 10 мкм до 1 мм. В даному випадку будемо обирати фільтрацію, оскільки вона має ряд переваг над іншими методами. Основними перевагами методу фільтрації є:

- Менші енергозатрати;
- Простота та зручність методу;
- Селективність [79,81].

У виробництві ферментованих напоїв шикоро використовується фільтрація через свічковий фільтр з кизельгуром. Вона є найпоширенішим видом фільтрації в мікропивоварнях. Фільтрація напою здійснюється через шар з фільтруючого матеріалу, який заливається на вертикальні фільтруючі свічки. Свічковий фільтр характеризується високою ефективністю фільтрації. Найбільш широко використовуваним фільтруючим середовищем є діатомова земля (кізельгур). Залежно від складу фільтруючого шару можуть бути досягнуті різні ступені чистоти та витрата відфільтрованої рідини. Постійне дозування діатомової землі дозуючим насосом підтримує фільтр на достатній проникності. Це дозволяє досягти високої продуктивності. Очищення (регенерація) фільтра відбувається дуже легко і швидко, не розбираючи посудину під тиском.

Основні переваги свічкового фільтра з діатомовою землею:

- Висока ефективність фільтрації
- Легка підтримка фільтра з точки зору санітарії
- Велика кількість картриджів забезпечує високу ємність

- Простота конструкції та процесу
- Невелика вартість витратних матеріалів - діатомові землі використовуючи як первинну, так і вторинну фільтрацію - вибір діатомового матеріалу як фільтрувального матеріалу
- Стабільна фільтраційна продуктивність потоку - вона не зменшується до повного закупорювання шару фільтра.
- Швидке та легке очищення (регенерація) фільтра без видалення пристрою
- Можливість автоматизованої експлуатації [82]

### **2.3.2. Карбонізація та зберігання готового напою «Комбуча» у форфасах**

Відомим етапом у виготовленні Комбучі в промислових масштабах є карбонізація напою. Процедура насичення напою газом – один з найважливіших етапів його приготування, адже від якості проведення процедури залежать не тільки смакові якості Комбучі, а й такі важливі чинники, як:

- щільність;
- насиченість;
- аромат.

Процедура може проходити двома способами – природним і примусовим. Перший варіант кращий для виготовлення Комбучі в домашніх умовах, тому що не вимагає спеціального обладнання. Ємністю для такої карбонізації Комбучі може бути навіть сама пляшка для розливу. Примусова карбонізація –варіант промислового виробництва.

Під природною карбонізацією розуміють процес, в ході якого відбувається насичення пива вуглекислотою в герметичній тарі. Для цього використовують спеціальні сухі інгредієнти. Вони отримали назву праймерів. Найпопулярніший праймер у домашньому виготовленні –

цукор, отриманий з кукурудзи. Найчастіше його замінюють на тростинний. Популярними є і такі праймери, як мед, патока, а також екстракт солодовий. Можна використовувати в процесі і різні види сиропів. Особливо популярні серед них шоколадний і кленовий [83].

Карбонізація за допомогою CO<sub>2</sub> (штучна карбонізація), зазвичай включає в себе карбонізацію під тиском. CO<sub>2</sub> утворює маленькі бульбашки, які надають газованим напоям освіжаючий смак. Більш того, карбонізація за допомогою CO<sub>2</sub> перешкоджає розмноженню патогенної мікрофлори [84].

Для різних напоїв використовуються різні об'єми двоокису вуглецю.

Карбонізація, або насичення діоксидом вуглецю, застосовується для виробництва двох категорій напоїв:

- газованих безалкогольних напоїв зі вмістом діоксиду вуглецю 5–8 г/л;
- негазованих напоїв з незначним (до 1 г/л) вмістом діоксиду вуглецю, що підсилює ароматичні та смакові відчуття.

Для газованих безалкогольних напоїв (таких, як Комбуча) ступінь карбонізації є ключовим параметром якості. Тенденція до використання натуральних інгредієнтів і підвищення вмісту соку в напої робить продукт більш сприйнятливим до контамінації. Тому, насичення Комбучі невеликими дозами CO<sub>2</sub> є обов'язковим етапом, оскільки це частина асептичної обробки напою. Масова частка CO<sub>2</sub> у напої становить 0,2–0,5%. Пляшки, заповнені напоєм, проходять бракераж, етикетування та до реалізації зберігаються на складі при температурі не вище 12°C [85].

### **2.3.3. Розлив та маркування напою**

Після відстоювання Комбучі у форфасах, напій розливають у пляшки 0,33 л під тиском за допомогою автоматичної розливочної машини.

Розливна машина виконує такі технологічні операції:

- Автоматичний прийом пляшок;

- Ополіскування пляшок;
- Наповнення пляшок напоєм «Комбуча»
- Відведення пляшок наповнених продуктом;
- Дезінфекція машини згідно з технологічними вимогами.

## 2.4. Обґрунтування форми випуску продукту

На сьогоднішній день існують різні форми випуску Комбучі в Україні таких як: концентрат напою чайного гриба, біоактивної добавки у вигляді капсул та безпосередньо ферментований напій Комбуча.

### 2.4.1. Органічний концентрат напою чайного гриба

Концентрат чайного гриба – концентрована версія чайного гриба з використанням низького тиску та низькотемпературної дистиляції. Без спирту, це чудова пероральна добавка, яка додається до звичайної води, або ж мінеральної [86].



*Рис 1.1.* Концентрат чайного гриба «Комбуча»

Концентрат чайного гриба «Комбуча» покращує діяльність шлунково-кишкового тракту, відновлює мікрофлору кишечника, нормалізує кислотність шлунка, сприяючи швидкому лікуванню від дизентерії, пригнічує гнильну мікрофлору, допомагає у боротьбі із запорами та при нирково-кам'яній хворобі, знижує артеріальний тиск, знижує рівень головного болю неврологічного характеру, позбавляє від болю в серці та безсоння.

### **Спосіб застосування**

Для приготування напою 2 столові ложки концентрату (дітям з 3 до 5 років – 1 столова ложка) розбавити 100-150 мл (за смаком) звичайної або газованої води. Концентрат чайного гриба Комбуча можна використовувати також замість оцту в салатах, такий “оцет”, приготований з чайного гриба набагато корисніший за звичайний. Концентрат чайного гриба Комбуча можна також застосовувати як косметичний засіб [87].

### **Протипоказання:**

Індивідуальна непереносимість одного чи кількох компонентів чайного гриба Комбуча. З обережністю приймати при цукровому діабеті, а також при підвищеній кислотності шлункового соку та виразковій хворобі шлунка.

### **Умови зберігання:**

Зберігати напій у прохолодному сухому місці. Після відкриття – зберігати у холодильнику [88].

### **Форма випуску:**

Флакони 1000мл [88].

### **2.4.2. Біоактивна добавка Комбуча**

Необроблена харчова біологічно активна добавка, що містить пробіотики та ферменти. Сприяє нормалізації травлення, нормалізує вагу, дозволяє наситити організм важливими електролітами та мікроелементами, прискорює відновлення після навантажень і занепаду сил. Містить у своєму складі: *лактобактерії* нормалізують мікрофлору кишечника, покращують роботу шлунково-кишкового тракту, стимулюють перильстатику. *Комплекс вітамінів* відновлює сили, зміцнює імунітет, знімає навантаження на нервову систему [89]



*Рис 1.2.* Біоактивна добавка «Комбуча»

**Інгредієнти:** порошок ферментованої екстракту чаю (декстрин, ферментований чайний екстракт) (вітчизняне виробництво), оливкова олія, рисове масло, порошок рослинних молочнокислих бактерій (молочнокислі бактерії (стерилізація), декстрин), ферментований продукт соєвих пептидів (соєвий пептид, декстрин), речовина, яка продукує молочнокислі бактерії (соєві боби, молочнокислі бактерії), фруктоолігосахариди, галактоолігосахариди, дріжджові пептиди / желатин, гліцерин, складні ефіри гліцерину і жирних кислот, рослинний лецитин (отриманий з соєвих бобів), вітамін С, ніацин, вітамін Е, пантотенат кальцію, вітамін В1, вітамін В2, вітамін В6 Вітамін А, фолієва кислота, вітамін D3, вітамін В12 [89]

#### **Спосіб застосування**

Дорослим приймати по 2 капсули в день. Найкраще приймати під час їжі. Капсули можна відкрити, а вміст змішати з водою або соком. Не призначено для дітей. Активне використання: Дорослі можуть збільшити дозу до 2 капсул три рази в день (6 капсул в день) [90]

#### **Запобіжні заходи**

- Не приймати в період вагітності і лактації.
- Містить хітозан, що може спричинити алергічні реакції

- Індивідуальна непереносимість.

### **Зберігання**

Зберігати у сухому прохолодному місці, щільно закриваючи упаковку, не допускати попадання прямих сонячних променів.

### **Форма випуску:**

Капсули 30 шт [91].

### **2.4.3. Ферментований напій Комбуча**

Ферментований напій Комбуча – це напій отриманий в результаті ферментації підсолодженого чаю і доданий до культури, що містить симбіотичний консорціум бактерій та дріжджів (SCOBY). Враховуючи зростання споживання і велику кількість досліджень, є необхідність у виготовленні потенційно споживчого продукту в Україні, оскільки на сьогоднішній день все більше споживачів віддають перевагу натуральним і корисним продуктам, що містять у своєму складі нутрієнти, які позитивно впливають на різні функції організму. Порівняння різних груп безалкогольних напоїв із точки зору лікувально-профілактичного та загальнооздоровчого впливу на організм людини свідчить, що однією з найбільш перспективних є група ферментованих напоїв. Їх активна оздоровча дія зумовлена не тільки використанням виключно натуральної сировини, а й застосуванням у технологічному процесі культур мікроорганізмів, корисних для людини. Традиційний напій виготовляється шляхом ферментації, спочатку підсолодженого чорного чаю (також можна використовувати і інші чаї), з додавання целюлозної плівки SCOBY (симбіотична колонія бактерій та дріжджів). У той час як осмофільні дріжджі зброджують цукор у чаї та виробляють етанол, бактерії окислюють спирт та виробляють оцтову кислоту. Крім оцтової кислоти утворюються інші органічні кислоти, такі як глюконова, молочна, яблучна,

лимонна і винна, які мають антибактеріальну активність і запобігають контамінації чайного гриба патогенними бактеріями [92].



*Рис 1.3. Ферментований напій «Комбуча»*

Що стосується смаку [93], чайний гриб трохи кислий і злегка газований, що забезпечує більше визнання серед споживачів. Він може бути слабоалкогольною заміною ігристих вин або безалкогольних напоїв через високий рівень газування, являючи собою більш здорову альтернативу. На ринку можна знайти безалкогольні та слабоалкогольні версії чайного гриба (менше 0,5% (об/об.)) або навіть алкогольні версії.

На сьогоднішній день у світі в цілому, та в Україні зокрема, виросла увага до функціональних напоїв, як об'єктів здорового способу життя, здатних корегувати функції та стан здоров'я організму людини. Сьогодні комбуча завойовує ринки прохолодних напоїв всього світу. За прогнозами, до 2022 року глобальний грошовий обсяг ринку комбучі досягне 2,5 млрд доларів США. Напій позиціонується як здорова альтернатива пиву та коли, що володіє пробіотичними властивостями і зміцнює імунітет [94].

Отже, у зв'язку з тим, що вживання алкоголю призводить до порушень травного тракту, печінки, серця, кровоносних судин, нервової системи та інших органів людини, актуальним є виготовлення безалкогольного напою

на основі закваски *SCOBY*, що здатний підвищувати загальний стан здоров'я людини та поліпшувати діяльність організму.

## **2.5. Обґрунтування вибору упаковки**

Сучасні виробники Комбучі, як і інші виробники напоїв, розливають напій в кеги, скляні пляшки, алюмінієві банки і ПЕТ-пляшки. Проте, найчастіше для розливу використовується саме кеги та скляні пляшки, що забезпечує довготривале зберігання продукту.

### **2.5.1. Комбуча в кегах та ПЕТ-упакуванні**

Розливна комбуча ідеально підходить для барів, ресторанів, продуктових магазинів, фітнес-студій та фестивалів, щоб зробити цей корисний напій доступним для своїх клієнтів та покупців. При подачі розливної комбучі її можна зберігати та подавати в тій же системі, що використовується для пива, вина та кави холодного варіння [95].



*Рис. 1.4.* Ферментований напій Комбуча в кегах

Подача напою в кезі гарантує якісний кінцевий продукт. Навіть якщо кег витрачається дуже повільно, комбуча в кезі ніколи не зіпсується. Односторонні кеги' забезпечують такий самий рівень захисту, як у пляшках або банках, але при цьому створюють менший вуглецевий слід, оскільки утворюють менше відходів [95].

ПЕТ-упаковка не тільки зберігає всі властивості комбучі від розливу до вживання, але й забезпечує значне зниження впливу на навколишнє середовище в порівнянні з існуючим скляним та алюмінієвим упакованням, упаковкою "пакет в коробці" та сталевими кегами. Вони також забезпечують операційні та фінансові переваги для виробників комбучі, дистриб'юторів та ресторанів, барів та продуктових магазинів [95].

### 2.5.2. Скляна пляшка

Сьогодні скляна пляшка для «Комбучі» виготовляється як і для пива, переважно з темно-зеленого або коричневого скла. Це обумовлено тим, що при впливі світла «Комбуча» змінює свої якісні характеристики.



*Рис. 1.5.* Ферментований напій Комбуча в скляній пляшці

Дизайн пляшок різних виробників неоднозначний: хтось розглядає саму пляшку як звичайну тару, а хтось вважає, що форма пляшки повинна залучати нових споживачів. При позиціонуванні пляшки невеликого обсягу (0,33 л) маркетологи стверджували, що пляшка міцно тримається в

руці, її приємно брати, а кількість рідини достатньо для задоволення одноразової потреби. Традиційною і найпопулярнішою ємністю для скляної пляшки вважається 0,33 літра [96].

### РОЗДІЛ 3. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Відомості та специфікація обладнання, що зображене на апаратурній схемі, наведені в табл. 3.1.

Таблиця 3.1.

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика
1	2	3	4
СП-1	СІР-мийка	1	Автоматична станція мийки призначена для автоматизованої мийки та дезінфекції технологічного обладнання та Трубопровід для ємностей до 1000 л, автоматика з пультом управління і екраном Siemens. Виробник: «ПРОМФ» (Україна) <sup>1</sup>
ПЗ-2	Повітрозабірник	1	Повітрозабірник АІИ 017.000-01. Фірма:«Вектор-Кондвент». Обладнаний металевою сіткою, що слугує для видалення механічних забруднень. Робочий тиск: до 0,6 МПа (6кгс/см <sup>2</sup> ) та до 1,2 МПа (12 кгс/см <sup>2</sup> ) [1]. Габаритні розміри: висота 219, ширина 602, довжина 398(Україна) <sup>2</sup>
Ф-3	Фільтр грубої очистки повітря	1	Магістральний фільтр F 0010 DF грубого очищення повітря від частинок розміром до 10мкм. Продуктивність 1170 л/хв. виробник: компанія «ОМІ» (Італія) <sup>3</sup>
К-4	Компресор	1	Компресор Albert E65-R з прямим приводом.Продуктивність:1000л/хв. Потужність: 7,5 кВт. Виробник «АТМОS» Габаритні розміри: 1558x646x1300 <sup>4</sup>

					НУХТ БТЕК 02.01.16		КР ПЗ	
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.	Вавілова А.І.				<b>РОЗДІЛ 3. Специфікація обладнання</b>	Літ.	Арк.	Акрушів
Перевір.	Красінко В.О.						59	124
Консультант						63		
Н. Контр.						Кафедра БТМ		
Затверд.	Стабніков В.П.							

Продовження таблиці 3.1.

Т-5	Теплообмінник-охолоджувач	1	Охолоджувач повітря VENTS ОКВ 500x250-3. Максимальний робочий тиск 0,15 Мпа (15бар). Виробник : «Vents» (Україна) <sup>5</sup>
Р-6	Ресивер	1	Ресивер ПЗВ 270-500-11 01.  Об'єм 270 л, максимальний робочий тиск 11 бар. Габаритні розміри: 1540x500. Виробник: «Zelko» (Україна). <sup>6</sup>
Т-7	Теплообмінник-нагрівач	1	Водяний нагрівач припливного повітря НКВ 400x200-4. Максимальний робочий тиск –1,6 Мпа (16 бар) та максимальна робоча температура +100 °С. Виробник : «Vents» (Україна). <sup>7</sup>
Ф-8	Фільтр тонкої очистки повітря	1	Магістральний фільтр ОМІ 04А.0180 тонкого очищення. Фільтруючий матеріал – поліестер. Ступінь очищення становить 0,01 мкм. Продуктивність 3000 л/хв. Габаритні розміри:28 x 9 см. Виробник: компанія «ОМІ» (Італія) <sup>8</sup>
Ф-9 Ф-13 Ф-17	Індивідуальний фільтр очистки повітря	2	Фільтр повітряний Ultradepth II P-SRF. Фільтруючий матеріал - боросилікат, ступінь очищення повітря фільтром становить 99,999 %. Виробник: «Donaldson company» (США) <sup>9</sup>
Р-11	Реактор - змішувач для приготування композиції А		Реактор-змішувач об'ємом 100 л, оснащений паровою сорочкою та перемішуючим пристроєм (180 об/хв). Максимальний робочий тиск – 1,6 МПа. Матеріал: нержавіюча сталь 316(L). Габаритні розміри усієї конструкції :800×800×1700мм. Виробник:«Стройторгсервіс» (Україна) <sup>10</sup>

Продовження таблиці 3.1.

Н-12	Насос відцентровий	1	Насос відцентровий Aquatica 777114 Продуктивність: 20 л/хв, потужність: 750 Вт. Габаритні розміри: 395x175x184 мм <sup>11</sup>
Р-15	Реактор - змішувач для приготування композиції А	1	Реактор-змішувач об'ємом 500 л, оснащений паровою сорочкою та перемішувачем (180 об/хв). Максимальний робочий тиск – 1,6 МПа. Матеріал: нержавіюча сталь 316(L). Габаритні розміри усієї конструкції :800×800×1700мм.Виробник:«Хіммікс» (Україна) <sup>12</sup>
Н-16	Насос відцентровий	1	Насос відцентровий Sprut MRS 3. Продуктивність:83л/хв,потужність: 750 Вт. Габаритні розміри: 395x175x184 мм <sup>13</sup>
Ін-14	Інокулятор	1	Інокулятор об'ємом 10 л оснащений сорочкою, барботером та мішалкою. Матеріал: нержавіюча сталь 316L. Габаритні розміри усієї конструкції: 890×660×890 мм. Виробник: «BSS» (США) <sup>14</sup>
Ін-18	Інокулятор	1	Інокулятор Ф-100 об'ємом 100 л, оснащений сорочкою, барботером та мішалкою потужністю 200-400 об/хв. Матеріал: нержавіюча сталь AISI 316(L). Габаритні розміри: 1300x700x1600.Виробник «Промвіт» (Україна) <sup>15</sup>
Б-20	Бродильний апарат	1	Бродильний апарат об'ємом 1000 л оснащений мішалкою потужністю 400 об/хв. Придатна напруга: 110В/220В/380В/415В (регулюється). Енергоспоживання: 36 кВт. Спосіб нагріву: парове, електричними елементами, прямим вогнем. Матеріал:

			нержавіюча сталь AISI 316(L). Виробник « Hulk» (Китай) <sup>16</sup>
Ф-22	Фільтр	1	Діатомовий пивний фільтр з кизельгуром потужністю 800 л/год, з дозуючим обладнанням та внутрішнім автоматичним промиванням. Максимальний робочий тиск- 6 бар, максимальна робоча температура - 80°C. Габаритні розміри: висота 2850 мм, довжина 1450 мм, ширина 900 мм. Матеріал - нержавіюча сталь 1.4301 / AISI316. Виробник: «Czech Mini Breweries» (Чехія). <sup>17 18</sup>
Ф-23	Форфас	1	Форфас об'ємом 1000 л. Матеріал – нержавіюча сталь, термоізоляція пенополіуретан товщиною 75 мм Має спіральну рубашку охолодження. Довжина – 2663 мм, висота – 2338 мм. Виробник: «Український крафт» (Україна) <sup>20</sup>
АМР-24	Автоматична машина розливу	1	Розливна машина потужністю 800 Вт. Напруга: 220В/110В. Тип приводу: пневматичний. Тиск повітря: 0,4-0,6 Мпа. Матеріал: нержавіюча сталь. Діапазон наповнення: 5-50 мл, 20-500 мл. Виробник: «Агро-тех» (Україна) <sup>21</sup>

Примітка\*: пошук і підбір обладнання здійснювався з використанням наступних електронних джерел:

1. <https://promf.com/molochnoe/list-sip-mojka-ru/1316-sip-mojka.html>
2. <http://condvent.ru/onas.php>
3. <https://autom.com.ua/ua/filtr-gruboyi-ochistki-stisnenogo-povitrya-f-0010-df-italiya>
4. <https://top-compressor.ru/catalog/vintovye-compressory/kompressor-vintovoy-atmos-albert-e65-r/>
5. <https://vent-market.com.ua/shop/product/vents-okv-500h250-3>
6. [https://www.zelko.ua/vozdhopodgotovka/resivery?gclid=Cj0KCQjw59n8BRD2ARIsAAmgPmLOWoJxYq3NSyhyGYUoGyBZKgfgJWHrbYbD CgBBFoFVcNMJWKdz7jIaAkcEALw\\_wcB](https://www.zelko.ua/vozdhopodgotovka/resivery?gclid=Cj0KCQjw59n8BRD2ARIsAAmgPmLOWoJxYq3NSyhyGYUoGyBZKgfgJWHrbYbD CgBBFoFVcNMJWKdz7jIaAkcEALw_wcB)
7. <https://vents-shop.com.ua/vodyanoy-nagrevatel-nkv-400h200-4/>

8. <https://otvertki.com.ua/p/786506135-hf-0030-3-4-filtr-tonkoy-ochistki-szhatogo-vozduha-omi-04a-0180-hg00-h-0000-italiya/>
9. <https://www.ahequip.net/wp-content/uploads/2015/07/ultrafilter-sterile-filter-PSRF.pdf>
10. <https://flagma.ua/emkost-iz-nerzhaveyushchey-stali-100-litrov-o7112299.html>
11. <https://sdplus.com.ua/nasos-tsentrobeznyy-0-75kvt-h-102-69-m-q-60-40-l-min-85mm-aquatica-dongyin-777114>
12. <https://khimmix.ua/himicheskie-reaktory/reaktor-500l-s-magnitnoj-meshalkoj>
13. [https://hotline.ua/dacha\\_sad-nasosy-vodosnabzheniya/sprut-mrs-3/?tab=prices&gclid=CjwKCAjw7cGUBhA9EiwArBAvorcJIRjXEROMkREKqQ-qH8Pi7TEvh73lZdgSaaSIZccGx9uwbxPiXBoCmSMQAvD\\_BwE](https://hotline.ua/dacha_sad-nasosy-vodosnabzheniya/sprut-mrs-3/?tab=prices&gclid=CjwKCAjw7cGUBhA9EiwArBAvorcJIRjXEROMkREKqQ-qH8Pi7TEvh73lZdgSaaSIZccGx9uwbxPiXBoCmSMQAvD_BwE)
14. [file:///C:/Users/chaun/Downloads/CATALOG\\_Bioreactor\\_System\\_Innova\\_2016\\_мiнiферментери.pdf](file:///C:/Users/chaun/Downloads/CATALOG_Bioreactor_System_Innova_2016_мiнiферментери.pdf)
15. <https://promvit.com.ua/reaktor-dlya-proizvodstva-sredstv-zashhity-rabochim-obemom-100-l/>
16. [https://www.alibaba.com/product-detail/500L-Commercial-Kombucha-Tea-Brewing-Equipment\\_1600088239825.html](https://www.alibaba.com/product-detail/500L-Commercial-Kombucha-Tea-Brewing-Equipment_1600088239825.html)
17. <https://www.czechminibreweries.com/uk/production/brewery-components/preparing-beer-for-sale/beer-filtration/candle-diatomaceous-earth-beer-filters/>
18. <https://eshop.czechminibreweries.com/uk/product/daf1/>
19. <https://termoprom.com.ua/uk/produkt/heatexchangers>
20. <https://termopab.com/product-info-99>
21. <https://agro-teh.com.ua/p843707692-avtomat-dlya-rozliva.html>

## РОЗДІЛ 4. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ БІОСИНТЕЗУ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ

Технологічна схема біосинтезу Комбучі включає допоміжні роботи (санітарна підготовка виробництва, підготовка повітря, підготовка та стерилізація поживних середовищ) та технологічний процес (підготовка посівного матеріалу та виробничий біосинтез)

### *ДР 1. Санітарна підготовка виробництва*

#### *ДР 1.1. Приготування миючих та дезінфікуючих засобів*

##### *ДР 1.1.1. Приготування робочого (2%) розчину «Міродез Універ»*

Для миття обладнання та комунікацій необхідно приготувати мийний розчин. Зі складу надходить концентрат «Міродез Універ», який розводять до потрібної концентрації (2%). Відомо, що для отримання 10 л 2-% робочого розчину необхідно взяти 9,8 літрів води і додати 200 мл концентрата [48,76]. У емальовану ємність вносять готовий концентрат «Міродез Універ» та додають холодну водопровідну воду, після чого інтенсивно перемішують при частоті обертів 50-100 об/хв.

##### *ДР 1.1.2. Приготування робочого (1%) розчину «Естер Дез»*

Зі складу надходить концентрат «Естер Дез», який розводять водою до концентрації 1%. У емальовану ємність вносять готовий концентрат та додають підігріту до температури 60°C водопровідну воду, після чого інтенсивно перемішують при частоті обертів 50-100 об/хв.

### *ДР 1.2. Підготовка виробничих приміщень*

#### *ДР 1.2.1. Щоденне прибирання приміщень*

Щоденне прибирання проводять вологим способом після кожного робочого дня у виробничих, лабораторних, підсобних і побутових приміщеннях.

					НУХТ БТЕК 02.01.16		КР ПЗ	
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Вавілова А.І.			<b>РОЗДІЛ 4. Опис технологічної схеми біосинтезу цільового продукту</b>	Літ.	Арк.	Акрівшів
Перевір.		Красінко В.О.					64	124
Консультант						68		
Н. Контр.						Кафедра БТМ		
Затверд.		Стабніков В.П.						

При проведенні вологого прибирання використовують приготований 2-% розчин «Міродез Універ» (від ДР 1.1.2).

#### *ДР 1.2.2. Генеральне прибирання приміщень*

Генеральне прибирання проводять один раз в місяць вже приготовленим 2-% розчином «Міродез Універ». Під час прибирання миють вікна, поверхні, підлогу, робочі інструменти.

#### *ДР 1.3. Підготовка технічного обладнання та комунікацій*

##### *ДР 1.3.1. Миття обладнання*

Для миття обладнання використовують СІР-мийку (СП-1) та робочий 1-% розчин «Естер Дез» (від ДР 1.1.1)

##### *ДР 1.3.2. Ополіскування обладнання*

Ополіскування обладнання здійснюється водою, протягом 20-30 хвилин.

##### *ДР 1.3.3. Технічний огляд*

Перед початком технологічного процесу перевіряють технологічний одяг персоналу на наявність механічних пошкоджень або забруднень, для запобігання контамінації.

##### *ДР 1.3.4. Перевірка на герметичність*

Під час перевірки апарату на герметичність, на апараті закривають усю запірну арматуру і подають аераційне повітря до набору надлишкового тиску  $P = 0,1 - 0,2$  МПа. Перекривають вентиль подачі повітря і фіксують покази манометра на кришці апарату та час витримки (30-60 хв) в операційному журналі. Якщо падіння тиску не перевищує 0,01 МПа, вважається, що апарат герметичний. В іншому випадку здійснюють пошук нещільностей на апараті та у місцях з'єднання запірної арматури з комунікаціями за допомогою галогенових речовин. Для цього в апарат вносять невелику кількість легкої галогенвмісної речовини (чотирихлористий карбон), знову закривають усю запірну арматуру. Апарат нагрівають до температури 80 °С і збільшують тиск до 0,2 МПа.

Пари галогенвмісної речовини проникають через неущільнення і виявляються у разі наближення щупа течієпошукача до них. Тривалість операції – 1,5-2 год. У разі виявлення неущільнень здійснюють їх ліквідацію.

#### *ДР 1.3.5. Стерилізація обладнання*

Процес стерилізації поділяють на три етапи: нагрівання апарату, стерилізація, охолодження. Нагрів апарату. Для цього у сорочку апарату подають глуху пару і прогрівають апарат до температури 80°C. Стерилізація. Відкривають усю запірну арматуру на відкритих трубних закінченнях та підведених до апарата комунікаціях і подають гостру пару безпосередньо в апарат через барботер або нижній спуск, попередньо відкривши вентиль виходу відпрацьованого повітря для видалення повітря з апарату. При досягненні в апараті температури стерилізації 130-135 °С закривають усю запірну арматуру, крім парової, і витримують 1,5 год (тиск 0,2 МПа). Також при стерилізації апарату паралельно стерилізуються індивідуальні фільтри стерильного та відпрацьованого повітря.

Охолодження. Для охолодження спочатку закривають усю запірну арматуру подачі пари в апарат і потім у сорочку подають холодну воду. В апарат подають стерильне повітря, що забезпечує компенсацію падіння тиску. Процес охолодження триває приблизно 3,5 год. до досягнення температури 30-40 °С і надлишкового тиску  $P = 0,003-0,005$  МПа

### ***ДР 2. Підготовка стерильного технологічного повітря***

#### *ДР 2.1. Забір атмосферного повітря*

Атмосферне повітря забирають через повітрозбірник (ПЗ-2) на висоті 5 м.

#### *ДР 2.2. Грубе очищення повітря*

Повітря очищається від грубого аерозолу (пилу) на фільтрі грубої очистки (Ф-3). Ступінь очищення  $E=70$  %.

#### *ДР 2.3. Стиснення повітря*

Повітря стискають у турбокомпресорі (К-4) до 0,4 МПа. Стиснення повітря в компресорі призводить до підвищення його температури до 250 °С і збільшення вмісту вологи на одиницю об'єму.

*ДР 2.4. Охолодження повітря та видалення вологи*

Для відведення надлишкової вологи стисненого повітря його «переохолоджують» в охолоджувачі повітря (Т-5) до температури 18-19°С і подають на ресивер (Р-6) для згладжування пульсацій і відділення зайвої вологи (W = 60 %).

*ДР 2.5. Нагрівання повітря*

З метою запобігання утворення конденсату пари, на волокнах головного та індивідуальних фільтрів, охолоджене повітря у теплообміннику (Т-7) нагрівають за допомогою водяного нагрівача припливного повітря до 30-35 °С.

*ДР 2.6. Очищення повітря в головному фільтрі*

Попереднє очищення повітря від мікроорганізмів здійснюють в головному фільтрі (Ф-8), в якому фільтрувальним матеріалом є поліестер. Ступінь очищення становить 95 %.

*ДР 2.7. Очищення повітря в індивідуальному фільтрі*

Кожен інокулятор, оснащують індивідуальним фільтром (Ф-9,Ф-13,Ф-17), фільтруючим матеріалом якого є боросилікат. Ступінь очищення становить E = 99,995 %.

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

*ДР 3.1. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту в колбах на качалках.*

Для приготування посівного матеріалу на качалочних колбах необхідно приготувати 550 мл поживного середовища. Вміст компонентів для середовища наведено у *табл. 5.1*

**Розрахунок вмісту компонентів для приготування 550 мл поживного середовища**

*Таблиця 4.1.*

Компонент поживного середовища	Вміст, мг/мл	Вміст компонента у 550 мл середовища, г (мл)	Композиція	Об'єм композиції, мл
Виноградний сік	-	545,05	А	<b>550</b>
Сахароза	9	4,95		
<b>Разом:</b>		<b>550</b>		

*ДР 3.1.1 Приготування та стерилізація композиції А.*

На технічних вагах зважують 4,95 г сахарози та вносять у відтаровану колбу об'ємом 1 л, додаючи 545,05 мл виноградного соку, перемішуючи. Колбу з приготовленим розчином закривають ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві при температурі 112°C упродовж 30 хв.

*ДР 3.2. Приготування і стерилізація середовища для вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 10 л.*

Для вирощування інокуляту необхідно 5,45 л поживного середовища. З урахуванням рідкого посівного матеріалу, об'єм якого 0,54 л, конденсату, що утворюється в процесі стерилізації, вміст виноградного соку – 4,38 л. Вміст компонентів для приготування 5,45 л середовища наведено в *табл. 5.2*

**Розрахунок вмісту компонентів для приготування 5,45 л  
поживного середовища**

*Таблиця 4.2.*

Компонент поживного середовища	Вміст, мг/мл	Вміст компонента у 4,91 л середовища, г (мл)		Композиція	Об'єм композиції, мл
Виноградний сік	-	4,38		А	<b>4,91</b>
Сахароза	9	0,044кг			
Конденсат	-	0,491			
<b>Разом:</b>		<b>4,91</b>			

*ДР 3.2.1 Приготування та стерилізація композиції А.*

На технічних вагах зважують 44 г сахарози та вносять у відтаровану колбу об'ємом 5 л, додаючи 4,38 л виноградного соку, перемішуючи. Колбу з приготовленим розчином закривають ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві при температурі 112°C упродовж 30 хв.

*ДР 3.3. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 100 л*

Для вирощування інокуляту необхідно 55 л поживного середовища. З урахуванням рідкого посівного матеріалу, об'єм якого 5,5 л та конденсату, що утворюється під час стерилізації, вміст виноградного соку буде становити 44,1 л. Вміст компонентів для приготування 55 л середовища наведено в *табл. 5.3*

**Розрахунок вмісту компонентів для приготування 55 л  
поживного середовища**

*Таблиця 4.3.*

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Вміст компонента у 49,5 л середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, л
Виноградний сік	-	44,1	А	<b>49,5</b>
Сахароза	9	0,45		
Конденсат	-	4,95		
<b>Разом:</b>		<b>49,5</b>		

*ДР 3.3.1 Приготування та стерилізація композиції А.*

На технічних вагах зважують 450 г сахарози вносячи у реактор об'ємом 100 л. Далі через провідні комунікації подають 44, 1 л виноградного соку. Стерилізація проходить при температурі 112°C упродовж 30 хв.

*ДР 3.4. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування культури ферментері об'ємом 1м<sup>3</sup>.*

Для виробничого біосинтезу необхідно 545,5 л поживного середовища. З урахуванням рідкого посівного матеріалу, об'єм якого 54,5 л ,конденсату, що утворюється в процесі стерилізації, загальна кількість виноградного соку, яку необхідно додати для приготування середовища – 437,5 л. Вміст компонентів для приготування 545 л середовища наведено в *табл. 5.4*

## Розрахунок вмісту компонентів для приготування 545,5 л поживного середовища

Таблиця 4.4.

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Вміст компонента у 491 л середовища, кг (л)	Композиція	Об'єм композиції, л
Виноградний сік	-	437,5	<b>A</b>	<b>491</b>
Сахароза	9	4,42		
Конденсат	-	49,1		
<b>Разом:</b>		<b>491</b>		

### *ДР 3.4.1 Приготування та стерилізація композиції А.*

У реактор 1000 л через об'ємно-ваговий дозатор вносять 4,42 кг сахарози. Через провідні комунікації подається виноградний сік кількістю 437,5 л. та вмикається перемішувач. Стерилізація відбувається при температурі 112°C протягом 30 хвилин.

### *ТП 4. Підготовка посівного матеріалу*

#### *ТП. 4.1. Отримання робочої культури на агаризованих середовищах.*

Усі репрезентативні штами ААВ (оцтовокислі бактерії) культивували в манітоловому бульйоні (D-манітол 25 г/л, дріжджовий екстракт 5 г/л, універсальний пептон 3 г/л) та інкубували при 30°C протягом 24 год при перемішуванні. LAB (лактобактерії) культивували в бульйоні MRS та

інкубували при 30°C протягом 24–48 год у статичних умовах. Ізоляти дріжджів культивували в триптичному соєвому бульйоні (AES), доповненому 2,5 г/л дріжджового екстракту та інкубували при 25°C протягом 48 годин.

#### *ТП 4.2. Зберігання робочої культури*

Штами бактерій та дріжджів зберігали в кріопробірках із вмістом гліцерину 30% або 40% об./об. відповідно при –80°C [90].

#### *ТП 4.3. Одержання робочої культури*

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

В асептичних умовах у колбу об'ємом 1 л вносять простерилізований виноградний сироп і розливають стерильним мірним циліндром (200 мл) по 180 мл у 3 качалочні колби об'ємом 1000 мл. У пробірки, з робочими культурами, додають 10 мл дистильованої води, для отримання суспензії, і переносять у поживне середовище. Для засіву однієї колби використовують суспензію, одержану з однієї пробірки. *Medusomyces gisevii* вирощують у колбах на качалці (150 об/хв) упродовж 56 годин. Після закінчення процесу культивування здійснюють мікробіологічний контроль.

Після вирощування в асептичних умовах, все зливають в одну колбу і передають (до ТП 4.4.) для вирощування культури в малому інокуляторі об'ємом 10 л.

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

В інокулятор (Ін-10) через засівну колбу вносять композицію А, згодом через засівну колбу вносять посівний матеріал (від ТП 4.3). Вирощують впродовж 56 годин при температурі 30°C, швидкість перемішування – 100-150 об/х. Періодично (кожні 8 годин) відбирають пробу культуральної рідини для мікробіологічного контролю. Далі культуру передають у інокулятор об'ємом 100 л.

#### *ТП 4.6. Вирощування культури в великому інокуляторі об'ємом 100л*

В інокулятор (Ін-14) за допомогою відцентрового насосу (Н-12) подають композиції А та посівний матеріал через трубу перетискування (від ТП 4.4). Температура культивування 30 °С, швидкість перемішування становить 150 об/хв. Тривалість культивування становить 56 год. Періодично (кожні 8 годин) відбирають пробу культуральної рідини для мікробіологічного контролю. Культуру подають в інокулятор об'ємом

*ТП 5. Бродіння ферментованого напою Комбуча*

*ТП 5.1. Бродіння Комбучі у бродильному апараті 1 м<sup>3</sup>*

У попередньо простерилізований бродильний апарат (БА-20) об'ємом 1 м<sup>3</sup> перекачують за допомогою насосу простерилізоване поживне середовище. Далі подається посівний матеріал (від ТП 4.5.). Зброджування Комбучі відбувається у анаеробних умовах при температурі 37°С впродовж 168 год. Періодично (кожні 8 год) відбирають пробу культуральної рідини для мікробіологічного контролю.

*ТП.6. Доброджування ферментованого напою Комбуча*

*ТП 6.1. Доброджування та дозрівання напою Комбуча.*

Охолоджену Комбучу залишають на доброджування при температурі 22 °С , тиск в апараті становить 0,14-,0,15 МПа, до вмісту спирту 1.2 % та вмісту сухих речовин 7,5-8,5%

*ТП.7. Фільтрування*

*ТП 7.1. Фільтрування готової Комбучі*

Готова Комбуча після доброджування і дозрівання для підвищення її стійкості при зберіганні, за допомогою відцентрового насосу(Н-21) направляють на фільтрування через фільтр-прес з діатомовими або кізельгуровими фільтрами(ФД-22). Фільтрування відбувається під тиском 0,16-0,20 МПа. Відфільтрована Комбуча стікає у форфаси (Ф-23)

*ТП 8. Зберігання, розлив та маркування напою*

*ТП 8.1. Зберігання Комбучі у фарфасах*

Відфільтровану Комбучу перед розливом зберігають у форфасі (Ф-23) при температурі 0-2° С для відпочинку протягом 2-8-ми год при тиску 0,25-0,30 МПа. Щоб обмежити окислення Комбучі, протитиск у ній створюють діоксидом вуглецю і ним же видавлюють Комбучу на розлив.

#### *ТП 8.2. Розлив та маркування*

Після відстоювання Комбучі у форфасах напій розливають у пляшки за допомогою автоматичної розливочної машини (РМ-24)

#### *ЗВ 9. Знешкодження відходів.*

##### *ЗВ 9.1. Знешкодження твердих відходів*

Пакувальна тара (від ДР 1.1.1., ДР 1.1.2.) утилізується шляхом відправлення відходів до спеціальних пунктів прийому вторинної переробки сировини для подальшої переробки

Знешкодження біомаси, а саме *SCOBY* найкраще буде проходити шляхом виготовлення альтернативи пластиковим обгорткам. Відомо [97], що плівка з комбучі – їстівна альтернатива пластиковим обгорткам. Проблема утилізації пластика сьогодні є найбільш актуальною по всьому світу. Вчені вкладають багато зусиль в вирішення цього питання, оскільки з кожним роком кількість використаних полімерних матеріалів зростає у геометричній прогресії, забруднюючи оточуюче середовище та наносячи безцінний збиток екосистемі. Польською дизайнеркою Розою Януш був запропонований незвичний метод вирішення цієї проблеми раз – вона створила обгортку з комбучі, яку можна їсти разом з загорнутими у неї продуктами харчування. Особливістю даної обгортки є здатність набувати запах та присмак того продукту, для якого вона використовується.

Досягти цього вдалося під час виготовлення комбучі, при цьому бактеріям дозволялося їсти присутні у рідині вуглеводи, створюючи нитки нерозчинної целюлози.

Після великої кількості досліджень, розробникам все ж вдалося створити плівкоподібну мембрану, що повністю відповідає необхідним

вимогам. З метою поліпшення процесу бродіння, крім бактерій і дріжджів, вони також використали сільськогосподарські відходи рослинного походження. Перевагою такого методу виготовлення замінича пластику є відсутність відходів. Біоупаковка – плівка з комбучі – має антибактеріальні властивості, не пропускає кисень та може використовуватись протягом 6 місяців з моменту виготовлення. Її можна утилізувати у якості компосту для підживлення ґрунту і навіть їсти з метою покращення травлення.



*Рис. 9.1. Біоупаковка Комбучі (Обгортка виготовлена MakeGrowLab)*

Утворена мезга використовується для повторної ферментації. За її допомогою можна приготувати смачне вторинне вино. Такий напій не буде мати насиченим кольором і ароматом, але він буде легким, приємним і м'яким на смак. Остаточний макуха має так само всіма корисними властивостями винограду: вітаміни групи А і В, залізо, магній, цинк та інші корисні мікроелементи зберігаються в шкірці на етапі заготівлі мезги [98]

### *ЗВ 9.2. Знешкодження рідких відходів*

Відпрацьовані розчини (від ДР 1.2.1, ДР 1.2.2., ДР 1.3.2.) додатково очищуються за допомогою аеротенків перед викидом у централізовану каналізацію.

### *ЗВ 9.3. Знешкодження газоподібних відходів*

Відпрацьоване повітря (від ТП 8.5., ТП 8.6., ТП 8.7., ТП 8.8., ТП 9.1.) попередньо очищується за допомогою промислового Скрубера Вентурі.

## РОЗДІЛ 5. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА

### 5.1. Карта постадійного контролю доферментаційних процесів.

Контроль технологічного процесу ведеться відповідно до вимог GMP. У процесі виробництва контролюють відповідність сировини, допоміжних матеріалів, контролюють санітарний стан цехів та робочих місць, виконання регламентованих технологічних операцій і виконання технологічних режимів роботи. На підставі аналізу критичних точок виробництва складають карту постадійного контролю. До переліку контрольних точок входять лише ті, які безумовно, потрібні для забезпечення коректного ходу технологічного процесу і випуску якісної продукції, що відповідає вимогам. У таблиці 5.1. наведена карта постадійного контролю доферментаційних процесів виробництва Комбучі

					НУХТ БТЕК 02.01.16		КР ПЗ	
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	<b>РОЗДІЛ 5. Контроль виробництва</b>	Літ.	Арк.	Акрюшів
Розроб.		Вавілова А.І.					76	124
Перевір.		Красінко В.О.						80
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Карту постадійного контролю виробництва Комбучі *Medusomyces gisevii* наведено у табл. 5.1.

Таблиця 5.1.

Номер контрольної точки та назва стадії	Об'єкт контролю і показник, що визначається	Засоби та методи контролю	Періодичність перевірки та порядок відбору проб	Нормативна характеристика показника, що визначається
1	2	3	4	5
<i>ДР 1. Підготовка аераційного повітря</i>				
Кт 1.1. Очищення на фільтрі грубої очистки	Ступінь чистоти повітря на виході з фільтра, перепад тисків	Манометр. Перевірка ступеня очистки	Безперервно під час очистки повітря в фільтрі грубого очищення	E = 70 %.
Кт 1.2. Стиснення повітря	Стиснення повітря, температура, тиск.	Манометр технічний, термометр	Після компресування повітря	P = 0,4 МПа, t = 250 <sup>0</sup> С,
Кт 1.3. Охолодження повітря у теплообміннику	Температура	Технічний термометр	Безпосередньо під час проведення процесу	t = 18-19°C
Кт 1.4. Видалення вологи	Волога	Вологомір	Безпосередньо під час проведення процесу	Чисте W=60%.
Кт 1.5. Нагрівання повітря	Температура	Технічний термометр	Безпосередньо під час проведення процесу	t = 30-35 °С
Кт 1.6. Очищення повітря в головному	Ступінь очищення , перепад	Перевірка ступеню очищення, манометр.	Після очистки повітря в фільтрі	E = 95%

фільтри	тисків.		тонкого очищення	
Кт 1.7. Очищення повітря в індивідуальному фільтрі	Ступінь очищення	Перевірка ступеню очищення.	Під час очистки повітря на індивідуальному фільтрі	E = 99,999%,
<b><i>ДР 2. Приготування та стерилізація компонентів поживних середовищ</i></b>				
<b><i>ДР 2.1. Приготування та стерилізація компонентів поживного середовища для вирощування інокуляту в колбах на качалці</i></b>				
Кт,Км 2.1.1 Приготування та стерилізація композиції А	Композиція А, температура час,стерильність	Манометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль	Тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	P=0,05 МПа, t=112 о С, τ = 30 хв, відсутність мікробіоти
<b><i>ДР 2.2 Приготування та стерилізація компонентів поживного середовища для вирощування інокуляту в інокуляторі об'ємом 10 л</i></b>				
Кт,Км 2.2.1 Приготування та стерилізація композиції А	Композиція А, температура час,стерильність	Манометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль	Тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	P=0,05 МПа, t=112 о С, τ = 30 хв, відсутність мікробіоти
<b><i>ДР 2.3 Приготування та стерилізація компонентів поживного середовища для вирощування інокуляту в інокуляторі об'ємом 100 л</i></b>				
Кт,Км 2.3.1 Приготування та стерилізація композиції А	Композиція А, температура час,стерильність	Манометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль	Тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	P=0,05 МПа, t=112 о С, τ = 30 хв, відсутність мікробіоти
<b><i>ДР 2.4 Приготування та стерилізація компонентів поживного середовища для вирощування інокуляту в ферментері об'ємом 1000 л</i></b>				

Кт,Км 2.4.1 Приготування та стерилізація композиції А	Композиція А, температура час,стерильність	Манометр технічний, годинник, мікробіологічний контроль	Тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний контроль після стерилізації	P=0,05 МПа, t=112 о С, τ = 30 хв, відсутність мікробіоти
<b>ТП 4 Підготовка посівного матеріалу</b>				
Кт,Км 4.4 Вирощування інокуляту в колбах на качалках	Посівний матеріал, тривалість вирощування, температура, швидкість перемішування, мікробіологічна чистота культури	Термометр технічний, годинник, тахометр, фотоелектроколориметр, мікробіологічний контроль	Після вирощування культури в колбах на качалках	t = 30°C, τ = 56 год, n = 150 об/хв, відсутність сторонньої мікробіоти
Кт,Км 4.5 Вирощування інокуляту інокуляторі об'ємом 10 л	Посівний матеріал, тривалість вирощування, температура, швидкість перемішування, мікробіологічна чистота культури	Термометр технічний, годинник, тахометр, фотоелектроколориметр, мікробіологічний контроль	Після вирощування культури в колбах на качалках	t = 30°C, τ = 56 год, n = 150 об/хв, відсутність сторонньої мікробіоти
Кт,Км 4.6 Вирощування інокуляту інокуляторі об'ємом 100 л	Посівний матеріал, тривалість вирощування, температура, швидкість перемішування, мікробіологічна чистота культури	Термометр технічний, годинник, тахометр, фотоелектроколориметр, мікробіологічний контроль	Після вирощування культури в колбах на качалках	t = 30°C, τ = 56 год, n = 150 об/хв, відсутність сторонньої мікробіоти

<b>ТП 5 Бродіння</b>				
Кт, Км, Кх 5.1 Бродіння	Культуральна рідина, швидкість перемішування, температура, рН, тривалість культивування, мікробіологічна чистота культури, концентрація Комбучі	Термометр технічний, годинник, датчик рН, фотоелектроколориметр, мікробіологічний контроль	Мікробіологічний контроль та визначення рівня біомаси проводять кожні 8 годин, концентрація лимонної кислоти визначається після закінчення процесу культивування	t = 37°C, τ = 168 год, n = 150 об/хв, відсутність сторонньої мікробіоти
<b>ТП 7. Зберігання, розлив, маркування</b>				
Кт 7.1. Зберігання Комбучі у форфасах	Температура, °С Тиск, МПа Тривалість процесу, х	Термометр технічний, манометр, годинник	Кожна партія після фільтрування	ДСТУ 3139 0...+2°C 0,25..0,30 МПа 2-8 год
Кт 7.2. Розлив	Допустимі відхилення від об'єму	Мірний посуд	Кожна партія після зберігання/	ДСТУ 3888-99 0,5 - ±3,0 1,0 - ±3,0 2,0 - ±1,0 50 - ±1,0

## 5.2. Мікробіологічний контроль

Мікробіологічний контроль посівного матеріалу і культуральної рідини здійснюють двома методами: прямим висівом на агаризовані поживні середовища і мікроскопіюванням [99]. Контроль здійснюють шляхом розсівання проби готового посівного матеріалу і культуральної рідини на чашки Петрі з відповідним агаризованим поживним середовищем до ізольованих колоній і подальшим мікроскопуванням мікроорганізмів з окремих колоній, які вирости на середовищі. Після інкубації посівів на середовищах з м'ясо-пептонним агаром (МПА) не повинно бути виявлено ріст мікроорганізмів, а на середовищі з глюкозо- картопляним агаром (ГКА) або картопляно-декстрозним агаром (КДА) – не повинно бути виявлено ріст сторонньої мікрофлори. Мікробіологічний контроль здійснюють кожні 8 годин [99].

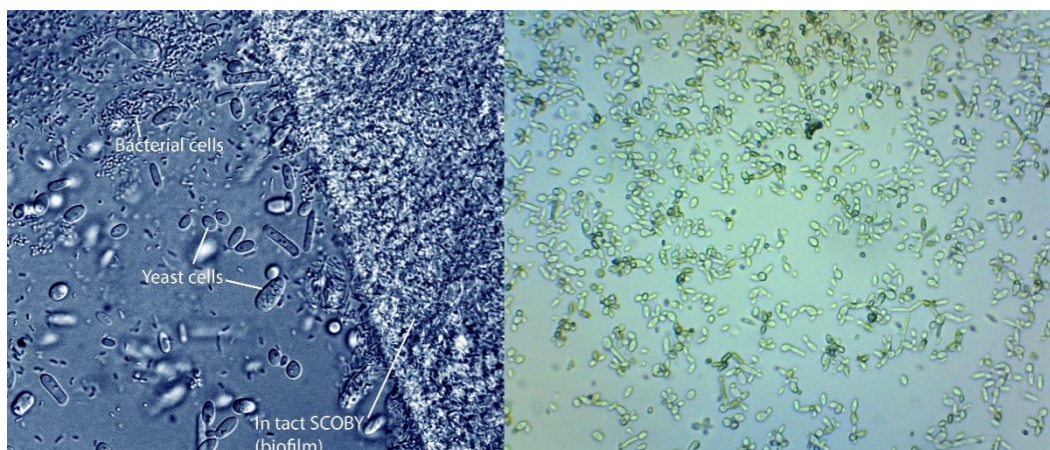


Рис 5.1. SCOBY під мікроскопом

Для мікроскопіювання використовують препарати «роздавлена крапля». Препарат «роздавлена крапля» готують на знежиреному предметному склі, на яке наносять маленьку краплю культуральної рідини, накривають накривним скельцем і розглядають з об'єктивом 40х, а також мікроскопують препарат з імерсійною системою. Для приготування препарату на чисте знежирене скло в асептичних умовах для запобігання контамінації з допомогою стерильної петлі нанести невелику краплю культуральної рідини та розподілити по склу (діаметр мазка - 1 см). Висушують при кімнатній температурі, поки вся волога не випарується. І

проводять мікроскопіювання в об'єктиві 40x також з імерсійною системою для цього на сухий препарат за допомогою скляної палички потрібно нанести 1-2 краплі імерсійного масла. Після всієї роботи потрібно за допомогою вати та етилового спирту протерти залишки масла з імерсійного об'єктива мікроскопа. За відсутності у зразку сторонньої мікробіоти ми побачимо клітини SCOBY [100].



Рис. 5.2 Целюлозна біоплівка (*Medusomyces gisevii*)  
під мікроскопом

### **Мікробіологічний аналіз швидкості росту дріжджів і оцтовокислих бактерій**

Швидкість росту дріжджів і оцтовокислих бактерій визначали за допомогою картопляного агару з декстрозою і середовища Кнайфеля (30 г/л дріжджового екстракту, 1 мл/л бромкрезолового зеленого (2,2%), 20 г/л агару; Поживне середовище доповнювали з 20 мл/л 95% етанолу, 100 мг/л натаміцину для інгібування зростання дріжджів і 12,5 мг/л пеніциліну для знищення зростання LAB після автоклавування. Сині та зелені колонії вказували на наявність *Acetobacter* і *Gluconobacter* відповідно. Для підрахунку оцтовокислих бактерій і дріжджів у зразках бульйону, аликвоти по 1 мл використовували для визначення характеру росту. Зразки після ряду десяткових знаків розведення (готується 0,1% стерильною пептонною водою) нанесли на кожне з двох середовищ для підрахунку бажаних мікроорганізмів (Chen and Liu 2000).

LAV були перераховані на агарі MRS доповнено 100 мкг циклогексїміду на мілілітр для придушення росту дріжджів. Колонії які росли на поверхні пластин і були обидва Грам озитивні та негативні каталази враховувалися як LAV. Для підрахунку мікроорганізмів у целюлозних оболонках до 20 г додавали 180 мл стерильної пептонної води (0,1%). Отриману суспензію використовували для перерахування бактерій і дріжджів. Підрахунок колоній проводили після 3 днів інкубації при 30 °C [101].

### **5.3. Показники росту і синтезу цільового продукту**

#### **Загальна кислотність та рН**

рН вимірювали за допомогою рН-метра (ADWA AD 1000 рН/mV & Temperature Meter) відкаліброваного за рН 4 і 7 при 25 °C. Загальну кислотність визначали об'ємним методом титруванням стандартним розчином гідроксиду натрію та фенолфталеїну як індикатора [102].

#### **Органічні кислоти**

Обернено-фазову хроматографію використовували для вимірювання вмісту оцтової, бурштинової, щавлевої, винної, мурашиної, молочної, яблучної, маленової та лимонної кислот на ВЕРХ серії Agilent 1100, США. Система складалася з дегазатора, бінарного насоса, колонки ZORBAX® SB-C18 (4,6 × 150 мм, 5 мкм) та детектора UV-DAD. Перед ін'єкцією зразки фільтрували через 0,45 мкм мембранний фільтр із регенованої целюлози та 20 мкл безпосередньо вводили в систему ВЕРХ. Рідинну хроматографію ізократичного режиму проводили з 6 ммоль/л фосфорної кислоти (рН 2,1) як рухомою фазою та такими параметрами: швидкість потоку 1,0 мл/хв, довжина хвилі детектування 220 нм і температура колонки 28 °C. Проведено калібрування зовнішнього стандартного методу. Результати виражали в грамах органічної кислоти на літр зразка [102].

#### **Антиоксидантна активність**

Антиоксидантну активність визначали методом відновлення потужності за Oyaizu або метод відновлення флюоресценції після фотознебарвлення з деякими модифікаціями. Кількість 1 мл зразка змішували з 5 мл PBS (фосфатний буфер, рН 6,6) і 5 мл 1% фериціаніду калію (мас./об.) у пробірці. Суміш ретельно перемішують і нагрівають на водяній бані при 50°C протягом 20 хв. Після охолодження додавали 5 мл 10% трихлороцтової кислоти. 5 мл суміші піпеткою внесли в пробірку і змішали з 5 мл дистильованої води та 1 мл 0,1% (мас./об.) розчину хлориду заліза. Поглинання при 700 нм вимірювали за допомогою спектрофотометра Jenway (6405 UV/Vis, Англія). Тролокс (10–100 мг/л; R2 = 0,99) використовувався як стандарт, а результати були виражені в мг/л еквівалентів Trolox [100].

#### **Антимікробна активність**

Антимікробну активність визначали за допомогою методу свердловинної дифузії та перевіряли з використанням таких бактерій: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Enterococcus faecalis* ATCC 10541, *Bacillus cereus* ATCC 117778, *Bacillus cereus* ATCC 117778, ECC 117778. ATCC 10536. Зразками, використаними для визначення антимікробної активності, були неферментований сік, 12-денний ферментований напій і нейтралізований ферментований сік (з 0,1 М NaOH). Ферментовані зразки фільтрували через стерильний мікрофільтр (діаметр 0,22 мкм) для видалення клітин. Штами бактерій вирощували на середовищі Мюллера–Хінтона при 37 °C протягом 24. Після інкубації клітини спочатку відмивали від поверхні агару, а потім суспендували в стерильному фізіологічному розчині. Суспензії бактерій доводили до концентрації 10<sup>7</sup> КУО/мл. Аликвоту цієї суспензії об'ємом 1 мл гомогенізували з 19 мл розтопленого агару Мюллера–Хінтона і суспензію агару розливали в чашки Петрі. Три лунки (діаметром 9 мм) вирізали в агаризоване середовище і потім вливали в лунки 100 мкл соку. Інокульовані планшети інкубували при 37 °C протягом 24 год і вимірювали зони

інгібування. Хлорамфенікол (30 мкг) використовували як контрольний зразок для оцінки чутливості досліджуваних штамів. Оцінку антимікробної активності зразків проводили у три етапи [102].

### **Сенсорний аналіз**

Сенсорний аналіз зразків Комбучі були проведені групою з 20 підготовлених членів, а описовий аналіз був проведений на трьох зразках: свіжого соку та 6- та 14-денного ферментованого соку. Учасники дискусії спочатку взяли участь у чотирьох 1-годинних навчальних сесіях, під час яких були розроблені дескриптори. Остаточні дескриптори були обрані учасниками дискусії під час тренінгу. Після періоду навчання зразки оцінювали в двох примірниках. У всіх випадках зразки подавали випадковим чином і подавали при температурі навколишнього середовища в кодованих прозорих пластикових склянках. Для полоскання ротової порожнини між досліджуваними зразками була доступна питна вода. Щоб оцінити інтенсивність аромату, солодкість, кислотність, колір і загальну прийнятність, було використано діапазон балів від 1 до 9, де 1 - крайню неприязнь; 2 - велика неприязнь; 3- помірна неприязнь; 4-легка неприязнь; 5 - ні симпатія, ні антипатія; 6 - легка симпатія; 7 - помірна симпатія; 8 - дуже подобається; 9 - надзвичайно подобається [102].

### **Статистичний аналіз**

Усі експерименти проводили у трьох примірниках і повідомляли середнє значення повторень зі стандартними відхиленнями. Коефіцієнти кореляції розраховували за допомогою аналізу CORR (P B 0,05). Експериментальні дані піддані дисперсійному аналізу (критерію Дункана) на рівні значущості 0,05 (програмне забезпечення SAS 2009) [101, 102].

## РОЗДІЛ 6. ПРОЕКТ ТЕХНІЧНИХ УМОВ НА ЦІЛЬОВИЙ ПРОДУКТ

**Технічними умовами (ТУ)** називається документ, що встановлює технічні вимоги, яким повинні задовольняти конкретний виріб, матеріал, речовина тощо, або їх група. Крім того, в ТУ повинні бути вказані процедури, за допомогою яких можна встановити, чи дотримані дані вимоги. Внесені в базу даних технічні умови можуть використовуватися при оцінці відповідності продукції вимогам законодавства України, технічних регламентів, інших нормативно-правових актів і національних стандартів [103,104].

Розробка ТУ здійснюється за рішенням розробника і / або виробника або на вимогу замовника (споживача) при відсутності нормативної документації (ДСТУ, ГОСТ) на продукцію, що випускається або невідповідність характеристик вимогам державних стандартів. Технічні умови є невід'ємною частиною комплексу конструкторської або іншої технічної документації на продукцію, а при відсутності документації повинні містити повний комплекс вимог до продукції, її виготовлення, контролю і приймання [103,104].

					НУХТ БТЕК 02.01.16		КР ПЗ					
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	<b>РОЗДІЛ 6. Проект технічних умов на цільовий продукт</b>			Літ.	Арк.	Акрушів		
Розроб.		Вавілова А.І.								86	124	
Перевір.		Красінко В.О.						Кафедра БТМ 90				
Консультант												
Н. Контр.												
Затверд.		Стабніков В.П.										

Технічні умови

ФЕРМЕНТОВАНИЙ НАПІЙ КОМБУЧА З ВИКОРИСТАННЯМ  
НЕТРАДИЦІЙНОЇ СИРОВИНИ

Ці технічні умови (ТУ) поширюються на безалкогольний ферментований напій «Комбуча» (далі - «ферментований напій», «Комбуча»).

Ферментований напій при приготуванні якого чайно-цукровий розчин зброджується симбіотичною полікультурою мікроорганізмів *Medusomyces gisevii*, яка містить дріжджі та оцтовокислі бактерії. Останні під час життєдіяльності продукують органічні кислоти (оцтову, молочну, глюконову, койєву), вітаміни С, групи В, амінокислоти, ферменти та інші біологічно активні

сполуки. Унаслідок бродіння утворюється приємний, природно газований, освіжаючий напій з кисло-солодким смаком [105].

Умови транспортування та зберігання:

Комбучу транспортують усіма видами транспорту згідно з правилами перевезення вантажів, чинними на відповідних видах транспорту. Під час перевезення напій повинен бути захищений від дії світла та морозу. Комбучу доставлену в транспортних засобах, зберігають під тиском діоксиду вуглецю в ізотермічних резервуарах за температури від 2 °С до 12 °С. Комбучу, розлиту в пляшки, зберігають у затемненому приміщенні [106].

# 1 ТЕХНІЧНІ ВИМОГИ

## 1.1. Характеристика

- 1.1.1. Ферментований напій повинен відповідати вимогам цього стандарту і бути виробленим згідно з технологічними інструкціями та(або) рецептурами, затвердженими в установленому порядку.
- 1.1.2. Комбучу залежно від кольору виробляють двох типів: світлу та темну.
- 1.1.3. Комбучу поділяють на фільтровану та нефільтровану; нефільтрована — на освітлену та неосвітлену; за способом оброблення — на пастеризовану та непастеризовану.
- 1.1.4. Комбучу залежно від масової частки спирту, одержаного внаслідок бродіння поділяють на безалкогольну та слабоалкогольну.
- 1.1.5. За органолептичними Комбуча повинна відповідати вимогам, зазначеним у таблиці 1.1 [107,108,109].

Таблиця 1.1.

Назва показника	Характеристика		Методи контролю	
	Нефільтрована			Фільтрована
	Неосвітлена	Освітлена		
Зовнішній вигляд	Непрозора піниста рідина. Допускають осад, обумовлений особливостями використаної сировини, без сторонніх включень не властивих продукту	Прозора піниста рідина обумовленою особливостями використаної сировини, без сторонніх включень не властивих продукту	Прозора піниста рідина без осаду та сторонніх включень, не властивих продукту. Допускають опалесценція, обумовлена особливостями використаної сировини	Відповідно до 7.2

Продовження таблиці 1.1.

Смак і аромат	Освіжаючий кисло- солодкий смак. Смак та аромат напою, який відповідає смаку та аромату використаної сировини. Допускають дріжджовий смак та аромат.
Колір	Обумовлений кольором використаної сировини – від світло-жовтого до темно-коричневого.

1.1.6. За фізико-хімічними показниками Комбуча повинна відповідати вимогам, зазначаних у *табл 1.2* [108,109].

Таблиця 1.2.

Найменування показника	Норма	Метод контролювання
Масова частка сухих речовин, %	$5,6 \pm 0,2$	Відповідно до 7.4.
Кислотність, см <sup>3</sup> р-ну гідроксиду натрію конц. 1 моль/дм <sup>3</sup> на 100 см <sup>3</sup> напою	$3,5 \pm 1,0$	Відповідно до 7.4.
Масова частка спирту, %	$0,5 \pm 0,2$	Відповідно до 7.3.
Масова частка діоксиду вуглецю, %	0,3	Відповідно до 7.4.
Стійкість напою, діб, не менше	60	Відповідно до 7.4.

1.1.7 Кількість дріжджових клітин у напої становить для неосвітленої Комбучі не більше ніж 10млн.кл./см<sup>3</sup>, освітлених – не більше ніж 0,5 млн.кл./см<sup>3</sup>, фільтрованих непастеризованих – не більше ніж 50 кл./см<sup>3</sup>. Відповідність визначають відповідно до 7.4.

1.1.9. Поживна (харчова) цінність та енергетичну цінність (калорійність) вказується у технологічній інструкції або рецептурі на кожну назву. Поживну цінність приймають за кількістю вуглеводів продукту через незначну кількість білків та жирів у продукті.

1.1.10. Значення допустимих відхилень фізико-хімічних показників повинні відповідати вимогам, зазначеним в таблиці 1.3 [109].

Таблиця 1.3.

Назва показника	Допустимі відхилення, не більше
Масова частка сухих речовин, %	$\pm 0,3$
Кислотність, $\text{см}^3$ , 1 моль/ $\text{дм}^3$ розчину гідроксиду натрію на 100 $\text{см}^3$ напою	$\pm 0,3$

## 1.2. Вимоги до сировини та допоміжних матеріалів

- воду питну згідно з ДСанПіН 2.2.4-171;
- діоксид вуглецю газоподібний і скраплений згідно з ДСТУ 4817;
- кислоту лимонну згідно з ДСТУ ГОСТ 908;
- цукор білий за ДСТУ 4623–2006 у вигляді цукрового сиропу;
- листя чаю чорного байхового фасованого за ДСТУ 7174:2010;
- лікарські та пряно-ароматичні рослини: сухий екстракт з листя м'яти перцевої та меліси лимонної, лофант анісовий за ДФУ-2018
- корінь солодки за ГОСТ 22839–88 [106,109]

1.2.1. Під час виробництва Комбучі використовують такі допоміжні матеріали:

- кізельгур та інші фільтрувальні порошки згідно з чинними нормативними документами;
- стабілізатори колоїдної стійкості згідно з чинними нормативними документами;
- фільтрувальний картон згідно з ГОСТ 12290

1.2.2. Дозволено використовувати іншу сировину та допоміжні матеріали згідно

з чинними нормативними документами, за наявності дозволу центрального органу виконавчої влади, що забезпечує формування державної політики у сфері охорони здоров'я.

1.2.3 Не дозволено використовувати під час виробництва напоїв бродіння синтетичні ароматизатори, смако-ароматичні речовини, підсолоджувальні та консервувальні речовини, барвники.

1.2.4. Всі харчові добавки та ароматизатори, які входять до складу використовують за умови їх державної реєстрації центральним органом виконавчої влади, що забезпечує формування державної політики у сфері охорони здоров'я [109].

## **2 ВИМОГИ ЩОДО БЕЗПЕКИ**

2.1. Вимоги до устаткування й утримання підприємств, що виробляють безалкогольні напої згідно зДСанПіН 4.4.4.-152.

2.2. Системи вентиляції підприємства відповідають вимогам ДСТУ Б А.3.2 –12 та опалення ДБН В.2.5–67. Умови мікроклімату виробничих приміщень відповідають вимогам ДСН 3.3.6.042.

2.3. Природне і штучне освітлення у виробничих і допоміжних приміщеннях відповідає вимогам ДНБ В 2.5-28.

2.4. Рівні шуму у виробничих приміщеннях відповідають вимогам ДСН 3.3.6.037, рівні вібрації –ДСН 3.3.6.039.

2.5. Протипожежна безпека забезпечується згідно з вимогами НАПБ А.01.001.

2.6. Попередні і періодичні медичні огляди проводяться у відповідності з вимогами, які встановлені наказами МОЗ України №280 від 07.03.2002 р.[1]та №246 від 21.05.2002 р.[2]

## **3 ВИМОГИ ЩОДО ОХОРОНИ ДОВКІЛЛЯ**

3.1. Охорона атмосферного повітря здійснюється згідно з Законом України «Про охорону атмосферного повітря» від 16.10.1992 року № 2707-ХІІ.

3.2. Охорону поверхневих вод та очищення зворотних вод - згідно з Правилами охорони поверхневих вод від забруднення зворотними водами від 25.03.1999 № 465.

3.3. Охорону поверхневих вод - згідно з СанПіН 4630.

3.4. Охорону ґрунту - згідно з Державними санітарними норми та правилами утримання територій населених місць.

3.5. Утилізуванню неякісної та небезпечної продукції - згідно з вимогами Закону України «Про вилучення з обігу, переробку, утилізацію, знищення або подальше використання неякісної та небезпечної продукції» від 14.01.2000 року №1393-XIV та ДСанПіН 2.2.7.029.

#### **4 МАРКУВАННЯ**

4.1. Текст маркування наносять згідно з чинним законодавством України, в тому числі –Технічним регламентом щодо маркування харчових продуктів, що забезпечує чітке нанесення та зрозуміле його прочитання.

4.2. Пляшки з напоєм маркують наклеюванням на кожну пляшку етикетки, виготовленої згідно з чинними нормативними документами, в якій зазначають:

1) назву безалкогольного напою;

2) тип, групу безалкогольних напоїв;

3) склад безалкогольного напою у порядку переваги вмісту інгредієнтів, зокрема харчових добавок та ароматизаторів, які використовують під час виробництва. Перед переліком інгредієнтів наводять заголовок: «Склад». У переліку інгредієнтів не зазначають речовини, використані як допоміжні матеріали. Дозволено не зазначати діоксид вуглецю, якщо вказано, що безалкогольний напій газований.

4) об'єм безалкогольного напою у дециметрах кубічних (дм<sup>3</sup>) або літрах (л) із зазначенням гранично-допустимих відхилів від номінального об'єму або нормативного документа, відповідно до якого їх встановлено, або зазначають знак відповідності «е» згідно з чинним законодавством;

5) кінцеву дату споживання безалкогольного напою «Вжити до (дата)» або «Придатний до (дата)», або дату виробництва (день, місяць, рік) та строк придатності (кількість днів або місяців, або років) спеціальними засобами у будь-якому місці споживчої тари, зручному для читання інформації;

б) умови зберігання;

7) найменування та місцезнаходження і номер телефону виробника або гарячої лінії, фактичну адресу потужностей (об'єкта) виробництва.

8) номер партії виробництва;

9) поживну (харчову) цінність, кількість вуглеводів у грамах (г) на 100 грамів (г) або 100 кубічних сантиметрів (см<sup>3</sup>), або 100 мілілітрів (мл) напою. Поживну цінність приймають кількістю вуглеводів у грамах на 100 грамів (г) або 100 кубічних сантиметрів (см<sup>3</sup>), або 100 мілілітрів (мл) напою через відсутність білків та жирів в продукті;

10) енергетичну цінність (калорійність) у кілоджоулях (кДж) та/або кілокалоріях (ккал) на 100 грамів (г) або на 100 кубічних сантиметрів (см<sup>3</sup>), або на 100 мілілітрів (мл) продукту;

11) позначення нормативного документа, згідно з яким виготовлено напій;

12) штрихові коди наносять на етикетку або контретикетку згідно з чинними нормативними документами та нормативно-правовими актами;

Дозволено:

а) надавати інформацію про розробника рецептур, наносити напис «Пийте охолодженим», а також та інші написи інформаційного і рекламного характеру, що характеризує продукт та, яка не суперечить чинному законодавству України;

б) зазначати перелік об'ємів фасованого напою від 0,2 дм<sup>3</sup> до 2,5 дм<sup>3</sup> та іншого об'єму згідно з чинними нормативними документами з нанесенням насічки для зазначення потрібного об'єму;

в) наносити назви кількох виробників із кодуванням кожної відповідними позначками: крапкою, літерою, трикутником, перфорацією тощо;

г) у разі виробництва напоїв для експорту інформацію в маркуванні наносять згідно з вимогами країни призначення;

д) наносити частину інформації на контретикетку.

4.3 Металеві банки маркують нанесенням на них інформації незмивною фарбою або в інший спосіб, який забезпечує чітке читання.

4.4. Бочки (кеги) маркують із зазначенням об'єму у кубічних дециметрах (дм<sup>3</sup>) або літрах (л).

#### 4.5. Транспортне маркування

На кожен одиницю транспортної тари наносять маркування, яке містить інформацію кількості одиниць спожиткової тари в одиниці транспортної тари (пакуванні) та місткість одиниці спожиткової тари, а також маніпуляційні знаки. Маніпуляційні знаки: «Крихке. Обережно» (для скляної тари), «Берегти від нагрівання», «Берегти від вологи», «Обмеження температури» із зазначенням відповідного інтервалу. «Верх» (для закритих упаковок) наносять згідно з ГОСТ 14192. Транспортне маркування дозволено не виконувати:

- у разі пакування продукції у відкриті ящики та групову тару, виготовлену з безбарвного або кольорового прозорого матеріалу (у відкриту картонну упаковку, пластмасові ящики, лотки, сувенірну картонну упаковку або підкладку);
- у разі формування транспортних пакетів з відкритих ящиків з продукцією або групової тари виконаної з прозорого матеріалу та кег;
- у разі транспортування продукції автомобільним транспортом за однією адресою та у залізничних вагонах, якщо це не передбачено договором (контрактом) на постачання продукції [109].

## 5 ПАКУВАННЯ

### 5.1. Комбучу фасують:

— у скляні пляшки 0,33 л місткості згідно з ДСТУ ГОСТ 10117.1 або дозволені центральним органом виконавчої влади, що забезпечує формування державної політики у сфері охорони здоров'я;

— у полімерні пляшки марки ПЕТФ 0,33 л місткості згідно з чинними нормативними документами або дозволені центральним органом виконавчої влади, що забезпечує формування державної політики у сфері охорони здоров'я;

— у металеві банки 0,33 л місткості згідно з чинними нормативними документами або дозволені центральним органом виконавчої влади, що забезпечує формування державної політики у сфері охорони здоров'я.

— у бочки (кеги) різної місткості згідно з чинними нормативними документами або дозволені центральним органом виконавчої влади, що забезпечує формування державної політики у сфері охорони здоров'я [108,110]

Таблиця 5.1.

Номінальна кількість напоїв, г (або см <sup>3</sup> )	Значення допустимого від'ємного відхилення	
	%	г (або см <sup>3</sup> , мл)
Від 5 до 50	9	-
Понад 50 до 100	-	4,5
Понад 100 до 200	4,5	-
Понад 200 до 300	-	9
Понад 300 до 500	3	-
Понад 500 до 1000	-	15
Понад 1000 до 10000	1,5	-
Понад 10000 до 15000	-	150
Понад 15000 до 50000	1	-

Наведені в таблиці 5.1. значення допустимих від'ємних відхилів у відсотках, що перераховують в одиниці маси або об'єму, округлюють до найближчого кратного одній десятій грама(г)або мілілітра(мл).

5.2. Об'єм напою в бочках (кегах) будь-якої місткості повинен бути не менше ніж 99,0 % від номінальної місткості.

5.3. Тару з напою закупорюють засобами згідно з чинними нормативними документами або дозволеними центральним органом виконавчої влади, що забезпечує формування державної політики у сфері охорони здоров'я.

5.4. Скляні та полімерні пляшки марки ПЕТФ, металеві банки з напоєм установлюють в ящики з пластмаси згідно з ДСТУ 3778, у ящики з гофрованого картону – згідно з ГОСТ 9142 або на картонні підкладки, або лотки з подальшим обтягуванням термосідалльною плівкою згідно з чинними нормативними документами.

5.5. Вимоги до пакування та кількості напою в одиниці пакування дозволено корегувати згідно з договором (контрактом) [109].

## **6 ПРАВИЛА ТРАНСПОРТУВАННЯ ТА ЗБЕРІГАННЯ**

6.1. Комбучу транспортують усіма видами транспорту згідно з правилами перевезення вантажів, чинними на відповідних видах транспорту. Під час перевезення Комбуча захищена від дії світла та морозу. Вантажні місця пакують згідно з ГОСТ 23285.

6.2. Комбуча в пляшках, металевих банках, бочках(кегах) зберігається в складських приміщеннях за температури: непастеризована —від 0 °С до 12 °С пастеризована або стерильного фільтрування —від 0 °С до 22 °С;

6.3. У складських приміщеннях пакування для Комбучі зберігають на піддонах або стелажах.

6.4. Дозволене транспортування та зберігання, які забезпечують збереження характеристик якості та безпечності напою.

## 7 МЕТОДИ КОНТРОЛЮ

7.1. Проби Комбучі для визначання фізико-хімічних показників відбирають згідно з ДСТУ 4856.

7.2. Органолептичні показники та об'єм визначають згідно з ДСТУ 7099.

7.3. Масову частку спирту визначають згідно з ДСТУ 7101 та розраховують об'ємну частку спирту ( $V_c$ ) у відсотках (%) за формулою:

$$V_c = \frac{M_c * d_{20}^{20}}{0,79067}$$

де  $M_c$ —масова частка спирту (згідно з ДСТУ 7101), %;  $d_{20}^{20}$ —відносна густина водно-спиртового розчину за температури плюс 20°C; 0,79067 – відносна густина безводного спирту за температури плюс 20°C. Обчислюють до другого десяткового знака з подальшим зведенням результату до першого десяткового знака.

7.4. Масова частка сухих речовин у напої визначають згідно з ДСТУ 4855, кислотність—згідно з ДСТУ 7102, масову частку діоксиду вуглецю – ДСТУ 7138, стійкість—згідно з ДСТУ 7100 [109].

7.5. Кількість дріжджових клітин у непастеризованому Комбучі визначають згідно з ІК 00032744-4246[3].

7.6. Дозволено використовувати інші методи контролювання, які атестовані в установленому порядку.

7.7. Оформлення результатів. Результати вимірювань та обчислень заносять у журнал. Журнал може мати паперовий та(або)електронний вигляд.

## 8 ПРАВИЛА ПРИЙМАННЯ

8.1. Правила приймання напою –згідно з ДСТУ 4856.

8.2. Кожну партію напою оформлюють одним документом,

8.3. Органолептичні, фізико-хімічні показники(окрім об'ємної частки спирту), об'єм визначають у кожній партії. Об'ємну частку спирту

визначають у разі розбіжності в органолептичній оцінці якості напою, а також на вимогу споживача та контролюючих органів.

8.4. Періодичність контролю за показниками безпеки готової продукції встановлюється у схемі виробничого контролю.

8.5. Якщо одержані незадовільні результати хоча б за одним із показників, проводиться аналіз подвійної кількості відібраних середніх проб, узятих від тієї самої партії напою. Результати повторних випробувань є остаточними і поширюються на всю партію.

## **9 ГАРАНТІЇ ВИРОБНИКА**

9.1. Виробник гарантує відповідність напою вимогам цього стандарту в разі дотримання правил транспортування та зберігання.

9.2. Строк придатності напою встановлюється у технологічній інструкції або рецептурі на кожну назву напою і повинен бути не більше показника стійкості, визначеного відповідно до 7.4. [110].

Додаток А (обов'язковий)  
Перелік нормативної документації,  
на яку дано посилання у справжніх ТУ

ДК 016:2010	Державний класифікатор продукції та послуг
ДСТУ 2368:2004	Напої безалкогольні. Виробництво. Терміни та визначення понять
ДСТУ 2887-94	Пакування та маркування. Терміни та визначення
ДСТУ 2890-94	Тара і транспортування. Терміни та визначення
ДСТУ 3778-98	Ящики пластмасові багатооборотні для пляшок. Загальні технічні умови
ДСТУ 4621:2006	Кислота молочна харчова. Загальні технічні умови
ДСТУ 4623:2006/ГОСТ 31361-2008	Цукор білий. Технічні умови
ДСТУ 4817:2007	Діоксид вуглецю газоподібний і скраплений. Технічні умови
ДСТУ 4855:2007	Продукція безалкогольної промисловості. Методи визначення сухих речовин
ДСТУ 4856:2007	Продукція безалкогольної промисловості. Правила приймання та методи відбирання проб
ДСТУ 7099:2009	Продукція безалкогольної промисловості. Методи визначання органолептичних показників та об'єму продукції
ДСТУ 7100:2009	Продукція безалкогольної промисловості. Метод визначання стійкості
ДСТУ 7101:2009	Продукція безалкогольної промисловості. Методи визначання спирту
ДСТУ 7102:2009	Продукція безалкогольної

	промисловості. Метод визначання кислотності
ДСТУ 7138:2009	Продукція безалкогольної промисловості. Методи визначання діоксиду вуглецю
ДСТУ ГОСТ 908:2006	Кислота лимонна моногідрат харчова. Технічні умови
ДСТУ ГОСТ 10117.1-2003	Пляшки скляні для харчових рідин. Загальні технічні умови
ДСТУ ГОСТ 10117.2-2003	Пляшки скляні для харчових рідин. Типи, параметри і основні розміри
ГОСТ 9142-90	Ящики із гофрованого картону. Загальні технічні умови
ГОСТ 9218-86	Цистерни для харчових рідин, які встановлюються на автотранспортні засоби. Загальні технічні умови
ГОСТ 12290-89	Картон фільтрувальний для харчових рідин. Технічні умови
ДСТУ Б А.3.2-12:2009 ССБП	Системи вентиляційні. Загальні вимоги
ДБНВ 2.5-28-2006	Природне і штучне освітлення
ДСанПіН 4.4.4-152-2008	Державні санітарні норми і правила для підприємств, що виробляють солод, пиво та безалкогольні напої
ДСанПіН 2.2.4-171-2010	Гігієнічні вимоги до води питної, призначеної для споживання людиною
ДСанПіН 2.2.7.029-99	Гігієнічні вимоги щодо поводження з промисловими відходами та визначення їх класу небезпеки для здоров'я населення
ДСН 3.3.6.042-99	Державні санітарні норми мікроклімату виробничих приміщень
ДСН 3.3.6.037-99	Державні санітарні норми виробничого шуму, ультразвуку і інфразвуку
ДСН 3.3.6.039-99	Державні санітарні норми виробничої та локальної вібрації
СанПіН 4630-88	Санітарні правила і норми охорони поверхневих вод від забруднення
НАПБ А.01.001-2004	Правила пожежної безпеки в Україні

## Бібліографічний показчик

1. Наказ МОЗ України No 280 від 23.07.2002 «Щодо організації проведення обов'язкових профілактичних медичних оглядів працівників окремих професій, виробництв і організацій, діяльність яких пов'язана з обслуговуванням населення і може призвести до поширення інфекційних хвороб»
2. Наказ МОЗ України No 246 від 21.05.2007 «Про затвердження Порядку проведення медичних оглядів працівників певних категорій»
3. ІК 00032744-4246–2006 Інструкція санітарно-мікробіологічного контролю пивоварного і безалкогольного виробництва. Затв. Заступником Голови Державного департаменту та продовольства Мінагрополітики України від 30.05.2006р.

## ВИСНОВКИ

1. Відомо, що функціональні продукти харчування, у тому числі напої, призначені позитивно впливати на певні функції організму, поліпшувати загальний стан здоров'я та перешкоджати захворюваності. При цьому слід зауважити, що природна рослинна сировина, яка може використовуватись у технології, є цінним і практично незамінним джерелом безпечних біологічно активних речовин, адаптованих до фізіологічних функцій організму людини. У зв'язку з цим встановлено, що важливим та актуальним є питання збагачення напоїв біологічно активними складовими рослинної сировини
2. При порівнянні різних груп безалкогольних напоїв з точки зору лікувально-профілактичного та загальнооздоровчого впливу на організм людини встановлено, що найбільш перспективними є ферментовані напої (напої бродіння), до яких належить, зокрема, Комбуча. Їх активна оздоровча дія обумовлена не тільки використанням виключно натуральної рослинної сировини, а й застосуванням в технологічному процесі культур мікроорганізмів. Біотрансформоване сушло перетворюється в напій з повноцінними біологічно активними речовинами за їх якісним і кількісним складом.
3. На основі аналізу сучасних літературних джерел встановлено, що ферментація для одержання функціонального напою Комбуча відбувається не лише з використанням чаю, як сировини. Прикладом слугує Комбуча з використанням як сировини виноградного соку. У ягодах винограду міститься від 2,5 до 6% вільних і зв'язаних у вигляді солей органічних кислот. 60% яблучної кислоти, 40% – винної, глюконової, лимонної, бурштинової, щавлевої. Також виноградні ягоди містять необхідні для організму людини мінеральні солі та мікроелементи, що дозволяє зробити висновок про більшу біологічну цінність Комбучі саме на основі виноградної сировини.

4. Зважаючи на позитивний вплив на функціонування організму людини фітохімічних речовин виноградного соку, зокрема таких, як ресвератрол, підтверджений численними дослідженнями, зазначеними у сучасній науковій літературі, та на той факт, що концентрація ресвератролу в шкірці ягід винограду збільшується в процесі ферментації, було обрано виноградний сік як сировину для розроблення біотехнологічних підходів до одержання функціонального ферментованого напою Комбуча.

5. Аналіз літературних даних дозволив сформулювати основні підходи до розроблення технологічного процесу. Виробництво ферментованого напою «Комбуча» включає в себе такі етапи: допоміжні роботи (санітарна підготовка виробництва), основний технологічний процес в який входить: біосинтез цільового продукту та підготовчі етапи для біосинтезу, процес виділення ферментованого напою, розлив, пакування та маркування ферментованого напою. Технологічними особливостями запропонованої біотехнології одержання функціонального ферментованого напою Комбуча є використання у якості сировини виноградного соку на основі закваски *SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast)*, що демонструє потенціал виноградного соку, як альтернативного відносно дешевого субстрату для виробництва напою.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Dufresne, C., Farnworth, E., Tea, Kombucha, and health: a review. *Food Res. Int.* 33, 409–421, 2000.
2. Sievers, M., Lanini, C., Weber, A., Schuler-Schmid, U., Teuber, M., Microbiology and Fermentation Balance in a Kombucha Beverage Obtained from a Tea Fungus Fermentation. *Syst. Appl. Microbiol.* 18, 590–594, 1995.
3. Marsh, A.J., O’Sullivan, O., Hill, C., Ross, R.P., Cotter, P.D. Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple kombucha (tea fungus) samples. *Food Microbiol.* 38, 171–178., 2014.
4. Sinir, G.Ö., Tamer, C.E., Suna, S. Kombucha Tea: A Promising Fermented Functional Beverage. *Fermented Beverages.* 401–432, 2019.
5. Baschali A., Tsakalidou E., Kyriacou A., Karavasiloglou N., Matalas A. Traditional low-alcoholic and non-alcoholic fermented beverages consumed in European countries: a neglected food group. 2017; 1-24. doi:10.1017/S0954422416000202.
6. Swami S.B., Thakor N.J., Divate A.D., Fruit Wine Production: A Review. 2014; 2(3): 93-100
7. Reddy, L. V. A., Reddy, O.V.S. Quality Assessment of Formulated Table Wine from Blends of Starfruit and Peter Mango Fruits. *American Journal of Food Science and Technology* 2020, 211-225
8. Baigazieva Z.H., Baigazieva G. I., Kekilbaeva A. K. Investigation of the fermentation process of beer wort based on alternative raw materials. *Series chemistry and technology* 2021, 128-134
9. Моргунова Є.М., Титенкова Н.І., Камінська І.І. Технологія нових сортів пива дієтичного призначення – МГУП, 2011, 28 – 30 с.
10. Marsh A.J., Hill C., Ross P.R, Cotter P.D. Fermented beverages with health-promoting potential, 2014, 113-124.
11. Chandan R.C., White C.H., Kilara A., Hui. Y.H. Manufacturing Yogurt and Fermented Milks. 2006; 3-17.

12. Belyaev A., Mosyagin V., Ryzhkova G., Shvets O. Development of kefir from non-traditional raw materials enriched with blackberry products. *BIO Web of Conferences*. 2021; 32(5): 5.
13. Filiz A., Karbancıoğlu G.F., Daskaya D.C., Heperkan D. A review on traditional Turkish fermented non-alcoholic beverages: Microbiota, fermentation process and quality characteristics. *International Journal of Food Microbiology* 167 (2013) 44–56.
14. Kabak B., Dobson A., D., V. An Introduction to the Traditional Fermented Foods and Beverages of Turkey. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2011; 51(3), 248–260
15. Arici, M., Daglıoğlu, O. Boza: A lactic acid fermented cereal beverage as a traditional Turkish food. *Food Reviews International*. 2011; 18(1), 39–48. doi:10.1081/fri-120003416.
16. Marsh, A. J., Hill, C., Ross, R. P., Cotter, P. D. Fermented beverages with health-promoting potential: Past and future perspectives. *Trends in Food Science & Technology*, 2014; 38(2), 113–124. doi:10.1016/j.tifs.2014.05.002.
17. Yeğin, S., Üren, A. Biogenic amine content of boza: A traditional cereal-based, fermented Turkish beverage. *Food Chemistry*. 2008; 111(4), 983–987. doi:10.1016/j.foodchem.2008.05.020.
18. Altay, F., Karbancıoğlu G.F., Dikmen, C.D., Heperkan, D. A review on traditional Turkish fermented non-alcoholic beverages: Microbiota, fermentation process and quality characteristics. *International Journal of Food Microbiology*, 2013; 167(1): 44–56.
19. Albuquerque, T. G., Costa, H. S., Sanches-Silva, A., Santos, M., Trichopoulou, A., D'Antuono, F., Finglas, P. Traditional foods from the Black Sea region as a potential source of minerals. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2013; 3535–3544
20. Costa, H. S., Albuquerque, T. G., Sanches-Silva, A., Vasilopoulou, E., Trichopoulou, A., D'Antuono, L. F., Finglas, P. New nutritional composition

- data on selected traditional foods consumed in Black Sea Area countries. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2013; 93(14): 3524–3534
21. Dlusskaya, E., Jänsch, A., Schwab C., Microbial and chemical analysis of a kvass fermentation. *Eur Food Res Technol.* 2008; 227: 261–266
22. Cvetković, D., Markov, S., Djurić, M., Savić, D., Velićanski, A. Specific interfacial area as a key variable in scaling-up Kombucha fermentation. *Journal of Food Engineering*, 2011; 85(3): 387–392
23. Tamang J.P., Kailasapathy K. *Fermented Foods and Beverages of the World.* International standard book. 2011; 85
24. Ayed L., Hamdi M. Manufacture of a beverage from cactus pear juice using “tea fungus” fermentation. 2015; 65: 2293–2299.
25. Aimidan A., Tamer., Canan E. Evaluation of physicochemical and bioaccessibility properties of goji berry kombucha. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2019; 1-14
26. Ulusoy A., Tamer, C. E. Determination of suitability of black carrot (*Daucus carota* L. spp. sativus var. atropurpureus Alef.) juice concentrate, cherry laurel (*Prunus laurocerasus*), blackthorn (*Prunus spinosa*) and red raspberry (*Rubus idaeus*) for kombucha beverage production. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2019.
27. Ulusoy A., Tamer, C. E. Determination of suitability of black carrot (*Daucus carota* L. spp. sativus var. atropurpureus Alef.) juice concentrate, cherry laurel (*Prunus laurocerasus*), blackthorn (*Prunus spinosa*) and red raspberry (*Rubus idaeus*) for kombucha beverage production. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2019.
28. Сотніков В.А., Марченко В.В. Напій «Чайний гриб» та його технологічні особливості – КНІТ, 2014 – 51-52 с
29. Vukmanović S., Vitas J., Ranitović A., Cvetković D., Tomić A., Malbaša R. Certain production variables and antimicrobial activity of novel winery effluent based kombucha, 2022

30. Jakubczyk, K., Kałduńska, J., Kochman, J., & Janda, K. (2020). Chemical Profile and Antioxidant Activity of the Kombucha Beverage Derived from White, Green, Black and Red Tea. *Antioxidants*, 9(5), 447. doi:10.3390/antiox9050447
31. Marsh, A. J., O'Sullivan, O., Hill, C., Ross, R. P., & Cotter, P. D. (2014). Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple kombucha (tea fungus) samples. *Food Microbiology*, 38, 171–178. doi:10.1016/j.fm.2013.09.003.
32. Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Chatzinotas, A., Chakraborty, W., Bhattacharya, D., & Gachhui, R. (2016). Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International Journal of Food Microbiology*, 220, 63–72. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2015.12.
33. Gaggia, F., Baffoni, L., Galiano, M., Nielsen, D., Jakobsen, R., Castro-Mejía, J., Di Gioia, D. Kombucha Beverage from Green, Black and Rooibos Teas: A Comparative Study Looking at Microbiology, Chemistry and Antioxidant Activity. *Nutrients*, 2018;11(1), 1. doi:10.3390/nu11010001
34. Antolak, H.; Piechota, D.; Kucharska, A. Kombucha Tea—A Double Power of Bioactive Compounds from Tea and Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts (SCOBY). *Antioxidants* 2021, 10, 1541.
35. Ivanišová, E., Meňhartová, K., Terentjeva, M., Harangozo, L., Kántor, A., & Kačániová, M. The evaluation of chemical, antioxidant, antimicrobial and sensory properties of kombucha tea beverage. *Journal of Food Science and Technology*, 2019; 57(5), 1840–1846. doi:10.1007/s13197-019-04217-3.
36. Jakubczyk, K., Kałduńska, J., Kochman, J., & Janda, K. Chemical Profile and Antioxidant Activity of the Kombucha Beverage Derived from White, Green, Black and Red Tea. *Antioxidants*, 2020; 9(5), 447. doi:10.3390/antiox9050447
37. Сотніков В.А., Марченко В.В. Напій «Чайний гриб» та його технологічні особливості – КНІТ, 2014 – 51-52 с

38. Шакірова І.А., Шаріпов А.А., Арсенъев С.В. Чайний гриб у виробництві напоїв – УГНТ, 2018 – 137-138 с.
39. Lavefve, L., Marasini, D., Carbonero, F. Microbial Ecology of Fermented Vegetables and Non-Alcoholic Drinks and Current Knowledge on Their Impact on Human Health. *Advances in Food and Nutrition Research*, 2018; doi:10.1016/bs.afnr.2018.09.001.
40. Marsh, A. J., O’Sullivan, O., Hill, C., Ross, R. P., & Cotter, P. D. (2014). Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple kombucha (tea fungus) samples. *Food Microbiology*, 38, 171–178. doi:10.1016/j.fm.2013.09.003
41. Gaggia, F., Baffoni, L., Galiano, M., Nielsen, D., Jakobsen, R., Castro-Mejía, J., Di Gioia, D. Kombucha Beverage from Green, Black and Rooibos Teas: A Comparative Study Looking at Microbiology, Chemistry and Antioxidant Activity. *Nutrients*, 2018;11(1), 1. doi:10.3390/nu11010001
42. Kumar V., Joshi V. Kombucha: Technology, Microbiology, Production, Composition and Therapeutic Valuentl. *J. Food. Ferment. Technol.* 6(1): 13-24, June, 2016. doi: 10.5958/2277-9396.2016.00022.
43. Івахненко О. Л, Стрілець О. П., Стрельников Л. С. Ферментовані напої: актуальність та перспективи створення. НФУ, м. Харків, 2012. - 353 с.
44. Прибильський В. Л., Романова З. М., Сидор В. М., Цед О. О. та ін. Технологія безалкогольних напоїв. Київ : НУХТ, 2014 - 310 с.
- 45 Карпутіна М. В., Харгелія Д. Д. Нешкідливі технології у виробництві безалкогольних напоїв з натуральної рослинної сировини. *Наукові пр. НУХТ.* 2016. Т. 22, № 6. С. 220–227
46. Проданова Г.О., Мартинюк Л.С. Ферментований чай – Комбуча. М. Одеса: НТБ ОНАХТ, 2020 – 243 с.
47. Kozuyrovska N.O., Reval O.M., Goginyan V.B., de Vera J.-P. Kombucha microbiome as a probiotic: a view from the perspective of post-genomics and synthetic ecology – *Biopolymers and Cell.* – 2012, 28, 2, 103–113.

48. Bhattacharya S., Manna P., Gachhui R., Sil P.C. Protective effect of kombucha tea against tertiary butyl hydroperoxide induced cytotoxicity and cell death in murine hepatocytes – *Indian.J. Exp. Biol.* – 2011, Jul., 49 (7), 511–524.
49. Кароматов І.Д. Чайний гриб і його використання у медичній практиці – м. Бухара БГМІ, 2018 – 49 с.
50. Jayabalan R., Marimuthu S., Thangaraj P., Sathishkumar M., Binupriya A.R., Swaminathan K., Yun S.E. Preservation of kombucha tea-effect of temperature on tea components and free radical scavenging properties – *J. Agric. Food Chem.* – 2008, Oct 8, 56 (19), 9064–9071.
51. Aloulou A., Hamden K., Elloumi D., Ali M.B., Hargafi K., Jaouadi B., Ayadi F., Elfeki A., Ammar E. Hypoglycemic and antilipidemic properties of kombucha tea in alloxan-induced diabetic rats – *BMC Complement. Altern. Med.* – 2012, May 16, 12, 63
52. Banerjee D., Hassarajani S.A., Maity B., Narayan G., Bandyopadhyay S.K., Chattopadhyay S. Comparative healing property of kombucha tea and black tea against indomethacin-induced gastric ulceration in mice: possible mechanism of action – *Food. Funct.* – 2010, Dec., 1 (3), 284–293.
53. Савчук Р., Удодов С. Аспекти промислового виробництва ферментованих напоїв із чайного гриба. м. Київ : НУХТ, 2021 - 38 с.
54. Споживання алкоголю в Україні [Електронний ресурс] Режим доступу: [https://ratinggroup.ua/research/ukraine/potreblenie\\_alkogolya\\_v\\_ukraine.html](https://ratinggroup.ua/research/ukraine/potreblenie_alkogolya_v_ukraine.html)
55. Виноград [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.harbuz.info/vinograd/>
56. C. Chen and B. Y. Liu, “Changes in major components of tea fungus metabolites during prolonged fermentation,” *Journal of Applied Microbiology*, vol. 89, no. 5, pp. 834–839, 2000.
57. D. Cvetković, A. Ranitovic, D. Savic, and N. Jokovic, “Survival of wild strains of lactobacilli during Kombucha fermentation and their contribution to

functional characteristics of beverage,” *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, vol. 69, no. 4, pp. 407–415, 2019.

58. R. Malbaša, E. Lončar, and L. Kolarov, “Sucrose and inulin balance during tea fungus fermentation,” *Roum Biotechnol Lett*, vol. 7, no. 1, pp. 573–576, 2002.
- 59 F. De Filippis, A. D. Troise, P. Vitaglione, and D. Ercolini, “Different temperatures select distinctive acetic acid bacteria species and promotes organic acids production during Kombucha tea fermentation,” *Food Microbiology*, vol. 73, pp. 11–16, 2018.
- 60 S.-C. Chu and C. Chen, “Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of kombucha,” *Food Chemistry*, vol. 98, no. 3, pp. 502–507, 2006.
- 61 F. Gaggia, L. Baffoni, M. Galiano et al., “Kombucha beverage from green, black and rooibos teas: a comparative study looking at microbiology, chemistry and antioxidant activity,” *Nutrients*, vol. 11, no. 1, p. 1, 2019.
- 62 M. Coton, A. Pawtowski, B. Taminiau et al., “Unraveling microbial ecology of industrial-scale Kombucha fermentations by metabarcoding and culture-based methods,” *FEMS Microbiology Ecology*, vol. 93, no. 5, 2017.
- 63 F. Gaggia, L. Baffoni, M. Galiano et al., “Kombucha beverage from green, black and rooibos teas: a comparative study looking at microbiology, chemistry and antioxidant activity,” *Nutrients*, vol. 11, no. 1, p. 1, 2019.
- 64 M. Coton, A. Pawtowski, B. Taminiau et al., “Unraveling microbial ecology of industrial-scale Kombucha fermentations by metabarcoding and culture-based methods,” *FEMS Microbiology Ecology*, vol. 93, no. 5, 2017.
- 65 Данилов П.І., Самойленко С.І. Апарати біотехнологічної промисловості: Підручник – Харків:НТУ «ХП», 2008. – 271 с.
- 66 Мотроненко В.В. Аналіз впливу перемішування на культивування. КП, м. Київ 2015.

- 67 Фільтр грубої очистки [Електронний ресурс] Режим доступу:  
<https://autom.com.ua/ua/filtr-gruboyi-ochistki-stisnenogo-povitrya-f-0010-df-italiya>
- 68 Магістральні фільтри [Електронний ресурс] Режим доступу:  
<https://newfilter.com.ua/ua/stysnene-povitria/magistralni-filtri-stisnenogo-povitrya.htm>
- 69 Індивідуальні фільтри [Електронний ресурс] Режим доступу:  
<https://www.ahequip.net/wp-content/uploads/2015/07/ultrafilter-sterile-filter-PSRF.pdf>
- 70 Грегірчак Н.М. Мікробіологія, санітарія і гігієна виробництв з основами НАССР конспект лекцій - К.: НУХТ, 2020. – 177 с.
- 71 Класифікація миючих засобів [Електронний ресурс] Режим доступу:  
<http://vitus-lviv.com.ua/novynu/klasyfikatsiya-myyuchyh-zasobiv>
- 72 Пугачевський Г.Ф. Товарознавство непродовольчих товарів. - К.: КНТУ. - 2010 - 324 с.
- 73 Неверова А.Н. Товароведение и организация торговли непродовольственными товарами : Учеб. Для нач. проф. образование - М. :ИРПО. - 2008. - 453с
- 74 МОЗ України. Державний реєстр дезінфекційних засобів [Електронний ресурс] // Режим доступу:  
[https://moz.gov.ua/uploads/ckeditor/Відкриті%20дані/2020\\_реєстр%20деззасобів%201-1006%20\(1\).pdf](https://moz.gov.ua/uploads/ckeditor/Відкриті%20дані/2020_реєстр%20деззасобів%201-1006%20(1).pdf)
- 75 Тонік Біюцид Плюс [Електронний ресурс]//Режим доступу:  
<https://datonal.org/?m0prm=3&m1prm=4&showItem=23>
- 76 Міродез Універ. Інструкція із застосування, склад [Електронний ресурс]//Режим доступу: <https://uk.stuklopechat.com/zdorove/113689-mirodez-univer-instrukciya-po-primeneniyu-sostav.html>
- 77 Засіб дезінфікуючий «Естер Дез» [Електронний ресурс] //Режим доступу: <https://harch.tech/2021/03/03/ester/>

- 78 Каустична сода [Електронний ресурс] //Режим доступу:  
[https://www.plasma.com.ua/ua/chemistry/chemistry/natrium\\_hidroxide.html](https://www.plasma.com.ua/ua/chemistry/chemistry/natrium_hidroxide.html)
- 79 Бекер М.Е. Введение в биотехнологию: Пер. с латыш. - Рига: Пищевая промышленность, 1978. - 230 с.
- 80 Карлаш Ю.В. Основи проектування біотехнологічних виробництв: Конспект лекцій для студентів напряму 6.051401 «Біотехнологія» денної та заочної форм навчання – К: НУХТ, 2013. – 143 с.
- 81 Ручай Н.С, Гребенчикова І.А., Технологія мікробного синтезу а: електронний курс лекцій для студентів спеціальності «Біотехнологія». БДТУ, 2014. - 167 с
- 82 Свічки діатомові пивні фільтри [Електронний ресурс] //Режим доступу:  
<https://www.czechminibreweries.com/uk/production/brewery-components/preparing-beer-for-sale/beer-filtration/candle-diatomaceous-earth-beer-filters/>
- 83 Види карбонізації [Електронний ресурс] //Режим доступу:  
<https://sunduk-pub.kiev.ua/?p=11832>
- 84 Карбонізація за допомогою CO<sub>2</sub> [Електронний ресурс] //Режим доступу:  
<https://www.acpco2.com/ru/beverages/karbonizaciya-s-pomoshchyu-co2>
- 85 Карбонізація напоїв: історія, технологія та наявні дані щодо впливу на здоров'я людини [Електронний ресурс] //Режим доступу:  
[https://www.health-medix.com/articles/misteztvo/2013-05-28/carbon\\_napoi.pdf](https://www.health-medix.com/articles/misteztvo/2013-05-28/carbon_napoi.pdf)
- 86 Концентрат Комбучі [Електронний ресурс] Режим доступу:  
<https://www.kombuchakamp.com/50x-kombucha-concentrate.html>
87. Чайний гриб Комбуча [Електронний ресурс] Режим доступу:  
<https://www.medcentre.com.ua/medikamenty/chayniy-grib-kombucha.html>
88. Концентрат чайного гриба Комбуча десертний [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://fitomarket.com.ua/kambucha-desert-11>

89. БАД Комбуча [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://dobavki.ua/ua/garden-of-life-vitamin-code-syroy-kombucha-60-veganskikh-kapsul-ultrazorbe/>
90. Біотус Комбуча [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://biotus.ua/pronatura-555-mg-30-kapsul.html>
91. Нормалізація травлення і відновлення з чайним грибом [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://besuto.com.ua/ua/p1319834413-seedcoms-kombucha-normalizatsiya.html>
92. Coelho, R. M. D., Almeida, A. L. de, Amaral, R. Q. G. do, Mota, R. N. da, & Sousa. Kombucha: Review. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 22, 2022. doi:10.1016/j.ijgfs.2020.100272
93. Vitas, J. S., Cvetanović, A. D., Mašković, P. Z., Švarc-Gajić, J. V., & Malbaša, R. V. Chemical composition and biological activity of novel types of kombucha beverages with yarrow. *Journal of Functional Foods*, 2018. doi:10.1016/j.jff.2018.02.019
94. Споживання алкоголю в Україні [Електронний ресурс] Режим доступу: [https://ratinggroup.ua/research/ukraine/potreblenie\\_alkogolya\\_v\\_ukraine.html](https://ratinggroup.ua/research/ukraine/potreblenie_alkogolya_v_ukraine.html)
95. Кеги для Комбучі [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.petainer.com/ru/markets/kombucha/>
96. Процес виробництва пива [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://koloro.ua/ua/blog/brending-i-marketing/process-proizvodstva-piva-upakovka-piva-steklyannye-i-plastikovye-butyilki-zhestyanye-banki-kegi.html>
97. Їстівна екоплівка з Комбучі [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://artenergo.com.ua/istivna-eko-plivka-z-kombuchi/>
98. Нюанси і технологія повторного використання виноградної мезги [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://b-i-g.com.ua/nyuansi-i->

[texnologiya-povtornogo-vikoristannya-vinogradno%D1%97-mezgi-shho-z-ne%D1%97-mozhna-prigotuvati/](#)

99. Красінько В.О. Методи контролю біотехнологічних, фармацевтичних і харчових виробництв: консп. лекцій для здобув. освіт. ступ. «бакалавр» спец. 162 «Біотехнології та біоінженерія» освіт.-проф. програми «Біотехнологія» ден. і заоч. форм навч. – К.: НУХТ, 2019. 60 с.
100. Шульга Н.М., Бовкун А.О., Млечко Л.А. Мікроскопіювання у санітарно- мікробіологічному контролі виробництва молочних продуктів: навч. посібник. К.: НУХТ, 2008. с. 17
101. Ivanišová, E., Meňhartová, K., Terentjeva, M., Harangozo, L., Kántor, A., & Kačániová, M. The evaluation of chemical, antioxidant, antimicrobial and sensory properties of kombucha tea beverage. *Journal of Food Science and Technology*. 2019, 57(5), 1840–1846.
102. Yavari N., Mazaheri M., Moghadam M, Larijani K., Optimizing Glucuronic Acid Production Using Tea Fungus on Grape Juice by Response Surface Methodology, *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(11): 1788-1794, 2011
103. Технічні умови – розробка, узгодження, реєстрація [Електронний ресурс] Режим доступу: <http://nvppoint.com/uk/tehnichni-umovi-rozrobka/>
104. Технічні умови [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.techconsult.com.ua/ua/poslugi/tehnichni-umovi/>
105. Технічні умови [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.techconsult.com.ua/ua/poslugi/tehnichni-umovi/>
106. Віпряк О. Технологія ферментованих напоїв на основі *Medusomyces gisevii* V з пряно-ароматичною сировиною, *Товари і ринки*. – 2018, 90–99 с.
107. ДСТУ 3888:2015 Пиво. Загальні технічні умови. З поправкою [Електронний ресурс] Режим доступу:

[http://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page?id\\_doc=65898](http://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page?id_doc=65898)

108. May et al., A. May, S. Narayanan, J. Alcock, A. Varsani, C. Maley, A. Aktipis Kombucha: a novel model system for cooperation and conflict in a complex multi-species microbial ecosystem, 2019.
109. Bishop P., Pitts E.R, Budner D., Thompson-Witrick K.A. Kombucha: Biochemical and microbiological impacts on the chemical and flavor profile. *Food Chemistry Advances*, 2022  
<https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100025>
110. ДСТУ 4069:201. Загальні технічні умови безалкогольні напої. Остаточна редакція. [Електронний ресурс] Режим доступу: [https://docplayer.net/41938786-Nacionalniy-standart-ukrayini-napoyi-bezalkogolni-zagalni-tehnicni-umovi-dstu-4069-201\\_-ostatochna-redakciya-vidannya-oficijne.html](https://docplayer.net/41938786-Nacionalniy-standart-ukrayini-napoyi-bezalkogolni-zagalni-tehnicni-umovi-dstu-4069-201_-ostatochna-redakciya-vidannya-oficijne.html)



Food Research International 33 (2000) 409–421

FOOD  
RESEARCH  
INTERNATIONAL

www.elsevier.com/locate/foodres

## Tea, Kombucha, and health: a review

C. Dufresne, E. Farnworth\*

*Food Research and Development Centre, Agriculture and Agri-Food Canada, 3600 Casavant Blvd. West, Saint-Hyacinthe, QC, Canada J2S 8E3*

Received 21 June 1999; accepted 1 December 1999

**Abstract**

Kombucha is a refreshing beverage obtained by the fermentation of sugared tea with a symbiotic culture of acetic bacteria and fungi, consumed for its beneficial effects on human health. Research conducted in Russia at the beginning of the century and testimony indicate that Kombucha can improve resistance against cancer, prevent cardiovascular diseases, promote digestive functions, stimulate the immune system, reduce inflammatory problems, and can have many other benefits. In this paper, we report on studies that shed more light on the properties of some constituents of Kombucha. The intensive research about the effects of tea on health provide a good starting point and are summarized to get a better understanding of the complex mechanisms that could be implicated in the physiological activity of both beverages. © 2000 Elsevier Science Ltd. All rights reserved.

*Keywords:* Tea; Kombucha; Health; Chemical composition; Beneficial property; Adverse reactions; Review

**1. Introduction**

A large amount of information has been published concerning the effects of tea and its major constituents on human health. This beverage has been consumed in many countries for a very long time, and today interest is growing because scientific reports indicate that tea could bring benefits for health and may help prevent chronic diseases. Tea was first introduced into European countries from China by Portuguese and Dutch explorers as a medicinal herb (Hollman, Hertog & Katan, 1996). Over the years, tea consumption became associated with eating and living habits just like coffee or soft drinks without regards to its benefits. The aging of the population and limitations of modern medicine have caused many people to look for new ways to improve their health. Doubts surrounding lifestyle and diet along with the growing interest in functional foods and nutraceuticals have contributed to this trend.

When we study the development of civilization and the role of food and folk medicine, we often discover that many foods and beverages were used for their assumed beneficial effects on health. Tea is the oldest

known medicine. It was taken in China 5000 years ago for its stimulating and detoxifying properties in the elimination of alcohol and toxins, to improve blood and urine flow, to relieve joint pains, and to improve resistance to diseases (Balentine, Wiseman & Bouwens, 1997). Tea grew rapidly in importance and was incorporated into many social rituals notably in China, Japan and England. Today, tea is the second most popular beverage in the world after water (Yang & Wang, 1993).

Another beverage known as Kombucha, is produced by the fermentation of tea and sugar by a symbiotic association of bacteria and yeasts forming a “tea fungus”. It also originated in China where the “Divine Che” was prized 220 BC during the Tsin Dynasty for its detoxifying and energizing properties (Roche, 1998). In 414, Doctor Kombu brought the tea fungus to Japan from Korea to cure the digestive troubles of the Emperor. “Tea Kvass” was introduced into Russia by oriental merchants and then into Eastern Europe and Europe around the turn of this century. This refreshing beverage tasting like sparkling apple cider is often produced in the home by fermentation using a tea fungus passed from home to home.

The composition and properties of tea are well documented, but scarce scientific information is available concerning the composition and the effects of Kombucha

\* Corresponding author. Fax: +1-450-773-8461.

E-mail address: farnworthe@em.agr.ca (E. Farnworth).

System. Appl. Microbiol. 18, 590–594 (1995)  
 © Gustav Fischer Verlag · Stuttgart · Jena · New York

## Microbiology and Fermentation Balance in a Kombucha Beverage Obtained from a Tea Fungus Fermentation\*

MARTIN SIEVERS, CRISTINA LANINI, ADRIEN WEBER, URSULA SCHULER-SCHMID,  
 and MICHAEL TEUBER

Institut für Lebensmittelwissenschaft, Labor für Lebensmittelmikrobiologie, ETH-Zürich, Schmelzbergstr. 9, CH-8092 Zürich, Switzerland

Received July 11, 1995

### Summary

The transformation of sucrose into glucose, fructose, gluconic acid, ethanol, and acetic acid was determined during a 60 day tea fungus fermentation. Black tea containing 67.5 g sucrose per litre was inoculated with 10% fermentation broth including the cellulose containing coherent top layer of a previous tea fungus fermentation. The microflora embedded in the cellulose/acetan layer was characterized as a mixed culture of *Acetobacter xylinum* and *Zygosaccharomyces* sp., respectively. The yeast cells converted sucrose into glucose and fructose. Fructose was metabolized prior to glucose. The pH value of the kombucha beverage decreased during fermentation from 3.75 to 2.42 as a result of acetic acid and gluconic acid formation. A fermentation balance of the substrates sucrose, glucose, fructose and products ethanol, acetic and gluconic acid and CO<sub>2</sub> was calculated based on the carbon-mass (g substrate × number of C-atoms × 12 / molecular weight of substrate) as parameter. The total carbon-mass at the start of the fermentation was 30.5 g. The analogous values obtained after 10, 20, 30 and 40 days were 30.7 g, 30.5 g, 28.6 g, and 30.5, respectively. The good stoichiometry implies that all major fermentation products have been accounted for.

Key words: Tea fungus – Fermentation – Beverage – Kombucha – *Acetobacter xylinum* – *Zygosaccharomyces*

### Introduction

The tea fungus is an association of yeasts and *Acetobacter* species fermenting sugared black tea into a refreshing kombucha beverage. The tea fungus first appeared in Asia and its use spread over Russia to Central Europe in about 1950 (Kraft, 1959). Different yeast species belonging to the genera *Zygosaccharomyces*, *Pichia*, *Brettanomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Saccharomyces*, *Torulasporea*, *Candida* were identified in different tea fungus cultures (Steiger and Steingger, 1957; Herrera and Calderon-Villagomez, 1989). *Acetobacter xylinum* synthesizes a floating cellulose/acetan network in which the embedded cells benefit from the close contact to the oxygen containing atmosphere. Caffeine and related compounds (theophylline, theobromine) were identified as activators for the bacterial cellulose production in *A. xy-*

*linum* (Fontana et al., 1991). The products of metabolism of a tea fungus during incubation on black tea containing sucrose as substrate were partially investigated by Reiss (1987, 1994). However, a complete fermentation balance has not been presented. In this study the metabolic activity of a commercially available tea fungus with sucrose as substrate was quantitatively determined. The dominant yeasts and acetic acid bacteria were isolated and taxonomically characterized.

### Materials and Methods

#### Fermentation

The tea fungus was purchased from a local pharmacy. 1 l tap water was boiled with 70 g sucrose. A 1.5 g tea-bag (London Tea Co.) was added and left to draw for 10 minutes. After cooling at ambient temperature, the tea mixture was placed into a sterile 3 l glass vessel with a diameter of 17 cm. 100 ml kombucha beverage

\* Dedicated to Andreas Lembke on the occasion of his 85th birthday.

Активаци  
 Чтобы акти



## Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple kombucha (tea fungus) samples



Alan J. Marsh<sup>a,b,c</sup>, Orla O'Sullivan<sup>a</sup>, Colin Hill<sup>b,c</sup>, R. Paul Ross<sup>a,b</sup>, Paul D. Cotter<sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup> Teagasc Food Research Centre, Moorepark, Fermoy, Co. Cork, Ireland

<sup>b</sup> Alimentary Pharmabiotic Centre, University College Cork, Co. Cork, Ireland

<sup>c</sup> Microbiology Department, University College Cork, Co. Cork, Ireland

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 24 May 2013

Received in revised form

3 September 2013

Accepted 11 September 2013

Available online 25 September 2013

#### Keywords:

Kombucha

Sequencing

Tea fungus

Tea

16S

ITS

### ABSTRACT

Kombucha is a sweetened tea beverage that, as a consequence of fermentation, contains ethanol, carbon dioxide, a high concentration of acid (gluconic, acetic and lactic) as well as a number of other metabolites and is thought to contain a number of health-promoting components. The sucrose–tea solution is fermented by a symbiosis of bacteria and yeast embedded within a cellulosic pellicle, which forms a floating mat in the tea, and generates a new layer with each successful fermentation. The specific identity of the microbial populations present has been the focus of attention but, to date, the majority of studies have relied on culture-based analyses. To gain a more comprehensive insight into the kombucha microbiota we have carried out the first culture-independent, high-throughput sequencing analysis of the bacterial and fungal populations of 5 distinct pellicles as well as the resultant fermented kombucha at two time points. Following the analysis it was established that the major bacterial genus present was *Gluconacetobacter*, present at >85% in most samples, with only trace populations of *Acetobacter* detected (<2%). A prominent *Lactobacillus* population was also identified (up to 30%), with a number of sub-dominant genera, not previously associated with kombucha, also being revealed. The yeast populations were found to be dominated by *Zygosaccharomyces* at >95% in the fermented beverage, with a greater fungal diversity present in the cellulosic pellicle, including numerous species not identified in kombucha previously. Ultimately, this study represents the most accurate description of the microbiology of kombucha to date.

© 2013 Elsevier Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

Kombucha is a sweetened, black tea beverage, which is fermented to contain ethanol and carbon dioxide. Traditionally fermented for 8–10 days, kombucha has a sour taste, resembling that of sparkling apple cider, which develops over prolonged fermentation into a mild vinegar flavour (Blanc, 1996; Reiss, 1994). The tea is fermented by the presence of a cellulosic pellicle or mat that rests above the broth forming a fresh layer with each successful fermentation. The fermentation itself is performed by a symbiosis of bacteria and yeast embedded within the cellulosic matrix. Kombucha, known by several names, including tea fungus and Haipao (Liu et al., 1996), has been brewed in China for over 2000 years, where it was fermented by many households. Although probiotic effects have yet to be directly associated with

kombucha-derived microorganisms (Kozyrovska et al., 2012), initial studies have shown promising health benefits in relation to the tea itself. Such health benefits include anti-carcinogenic (Jayabalan et al., 2011) and anti-diabetic (Aloulou et al., 2012; Hiremath et al., 2002) effects, treatment for gastric ulcers (Banerjee et al., 2010) and high cholesterol (Yang et al., 2009), and it also has been shown to impact immune response (Ram et al., 2000) and liver detoxification (Loncar et al., 2000).

The majority of microbiology-orientated studies of kombucha to date have been culture-based. These are limited in that certain species can be difficult to isolate and the exclusive reliance on phenotypic traits can lead to misidentification (Raspor and Goranovic, 2008). Additionally, culture-based studies tend to be low-throughput and thus only a certain proportion of isolates will ever be investigated. Traditionally, only a few genera of bacteria have been isolated from kombucha, most frequently *Acetobacter* (Chen and Liu, 2000; Dutta and Gachhui, 2006; El-Salam, 2012; Hesseltine, 1965; Liu et al., 1996; Sievers et al., 1996; Zhang et al., 2011), but species of *Gluconacetobacter* and *Lactobacillus* have also been identified (Trovatti et al., 2011; Wu et al., 2004; Yamada et al.,

\* Corresponding author. Teagasc Food Research Centre, Moorepark, Fermoy, Co. Cork, Ireland.

E-mail address: [paul.cotter@teagasc.ie](mailto:paul.cotter@teagasc.ie) (P.D. Cotter).

## 10

## KOMBUCHA TEA: A PROMISING FERMENTED FUNCTIONAL BEVERAGE

Gülşah Özcan Sinir, Canan Ece Tamer, Senem Suna

*Department of Food Engineering, Uludağ University, Bursa, Turkey*

### 10.1 Introduction

Kombucha tea is manufactured by fermenting sweetened black or green tea with powerful symbiosis of acetic acid bacteria (AAB) and yeasts forming cellulose-like pellicle (zooglear mat) on its surface (Srihari et al., 2013a). It is a traditional beverage emerged in China several thousand years ago (Cetojevic-Simin et al., 2008). It was first consumed in Asia for its health-promoting benefits. The medicus Kombu used this beverage to treat the digestive troubles of the Japanese Emperor. With the expansion of commerce, the consumption of kombucha expanded to Russia and Germany. In the 1950s its consumption became very popular in France. The habitude of consuming kombucha was palatable throughout Europe till Second World War which caused extensive scarcity of the tea and sugar. According to the researchers in Switzerland, kombucha was similarly beneficial as yogurt (Jayabalan et al., 2014). Kombucha becomes popular in the United States, due to its revitalizing and therapeutic effects. This beverage has been intensely used for a long time worldwide for its prophylactical and curative features (Battikh et al., 2012) with regular consumption, reportedly leads to longevity because of the reversal of aging processes (Kurtzman et al., 2001). This beverage is produced in large scale for commercial use as well as for domestic consumption. Nowadays, kombucha with different flavors is sold worldwide in markets (Dufresne and Farnworth, 2000; Watawana et al., 2015a).

The flavor of kombucha tea is considered to be satisfactory and acerbic, mildly sour and mildly alcoholic, similar to apple cider. As the kombucha fermentation progresses, the taste of the beverage evolves from likeable fruity, sour, and effervescent flavor to strong vinegary taste, thus increasing the consumer acceptability of the flavor and other sensory aspects of the beverage (Goh et al., 2012; Watawana et al., 2015a).

Fermented Beverages. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815271-3.00010-5>  
© 2019 Elsevier Inc. All rights reserved.

401

Активаци



Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Gastronomy and Food Science

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/ijgfs](http://www.elsevier.com/locate/ijgfs)

Review Article

## Kombucha: Review

Raquel Macedo Dantas Coelho<sup>a</sup>, Aryelle Leite de Almeida<sup>b</sup>, Rafael Queiroz Gurgel do Amaral<sup>b</sup>, Robson Nascimento da Mota<sup>b</sup>, Paulo Henrique M. de Sousa<sup>b,c,\*</sup><sup>a</sup> Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Do Rio Grande Do Norte, Brazil<sup>b</sup> Gastronomy Undergraduate Program, Culture and Art Institute, Federal University of Ceara, Brazil<sup>c</sup> Department of Food Engineering Federal, University of Ceara, 60356-000, Fortaleza, CE, Brazil

## ARTICLE INFO

## Keywords:

Kombucha preparation  
Alternative substrates  
Kombucha legislation  
Innovative products

## ABSTRACT

Kombucha is a beverage resulting from the fermentation of sweetened tea (*Camellia sinensis*) and added to a culture containing a symbiotic consortium of bacteria and yeasts (SCOBY). Rising in the food market contributes to the balance of the intestinal microbiota and antimicrobial and anticancer properties. Considering the growing increase in consumption and the large number of studies that address the theme, it is necessary to carry out a bibliographic survey based on the most current and relevant works in the area. In this sense, information was collected about the kombucha production process. The substrates used in the preparation of the traditional drink, or even others that give the drink an innovative character; chemical and microbiological composition and variations; the characteristics of the SCOBY, as well as its applications; the possible benefits attributed to the consumption of kombucha; toxic properties and finally the regulations regarding the production and marketing of kombucha. In addition to reviewing these themes, this work also offers suggestions on preparing the drink.

## Introduction

Kombucha is a fermented drink of Asian origin. However, it has gained popularity in the West due to its therapeutic effects, such as antimicrobial, antioxidant, anticarcinogenic, antidiabetic, treatment for gastric ulcers, and high cholesterol. It has also shown an impact on the immune response and liver detoxification (Chakravorty et al., 2016).

The traditional drink is made from fermentation, originally, of sweetened black tea (*Camellia sinensis*). However, other teas can also use for its preparation (Rodrigues et al., 2018). The fermentation of tea is the product of a symbiotic colony of bacteria and yeasts installed in a cellulose film. This cellulose film is called SCOBY (Symbiotic Colony of Bacteria and Yeasts). However, it is also known as tea fungus or kombucha mother (De Filippis et al., 2018; Chakravorty et al., 2016; Santos, 2016). While osmophilic yeasts ferment sugar in tea and produce ethanol, bacteria oxidize alcohol, and make acetic acid (Teoh et al., 2004). Other organic acids are formed in addition to acetic acid, such as gluconic, lactic, malic, citric, and tartaric, which have antibacterial activity and prevent kombucha contamination by pathogenic bacteria (Neffe-Skocinska et al., 2017; Leal et al., 2018).

The beneficial effects of kombucha are attributed to the presence of probiotic microorganisms (acetic and lactic bacteria), antibiotics, amino

acids, polyphenols from tea, sugars, organic acids, ethanol, water-soluble vitamins, and a variety of micronutrients produced during fermentation (Jayabalan et al., 2008; Fu et al., 2014).

Regarding flavor, according to Leal et al. (2018), kombucha is slightly acidic and slightly carbonated, which provides greater acceptance among consumers. It can be a low-alcoholic substitute for sparkling wines or soft drinks due to its high carbonation degree, constituting a healthier alternative (Paludo, 2017). Kombucha can found non-alcoholic and low-alcohol versions (less than 0.5% (v/v) of alcohol) on the market, or even alcoholic versions (Nummer, 2013; Brasil, 2019).

The purpose of this review was to survey the different processes for obtaining the drink, the possibilities of substrates for obtaining it, the characteristics of the SCOBY and its applications, the chemical and microbiological composition of the drink, the possible benefits and contraindications related to its consumption, some regulations imposed for the production and commercialization of kombucha and finally to present, in a summarized form, suggestions for the preparation of the drink.

\* Corresponding author. Av. Jovita Feitosa 3300 ap. 801B Sul code, 60455, Fortaleza, CE, Brazil.  
E-mail address: [phmachado@ufc.br](mailto:phmachado@ufc.br) (P.H.M. Sousa).

<https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2020.100272>

Received 8 July 2020; Received in revised form 16 October 2020; Accepted 16 October 2020

Активация  
Чтобы активир

PeerJ

## Kombucha: a novel model system for cooperation and conflict in a complex multi-species microbial ecosystem

Alexander May<sup>1,2</sup>, Shrinath Narayanan<sup>3</sup>, Joe Alcock<sup>4</sup>,  
Arvind Varsani<sup>1,5,6,7</sup>, Carlo Maley<sup>1,3</sup> and Athena Aktipis<sup>2,3,5,7</sup>

<sup>1</sup> School of Life Sciences, Arizona State University, Tempe, AZ, USA

<sup>2</sup> Department of Psychology, Arizona State University, Tempe, AZ, USA

<sup>3</sup> The Biodesign Center for Biocomputing, Security and Society, Arizona State University, Tempe, AZ, USA

<sup>4</sup> University of New Mexico, Albuquerque, NM, USA

<sup>5</sup> The Biodesign Center for Fundamental and Applied Microbiomics, Center for Evolution and Medicine, School of Life Sciences, Arizona State University, Tempe, AZ, USA

<sup>6</sup> Structural Biology Research Unit, Department of Clinical Laboratory Sciences, University of Cape Town, Cape Town, South Africa

<sup>7</sup> Center for Evolution and Medicine, Arizona State University, Tempe, AZ, USA

### ABSTRACT

Kombucha, a fermented tea beverage with an acidic and effervescent taste, is composed of a multispecies microbial ecosystem with complex interactions that are characterized by both cooperation and conflict. In kombucha, a complex community of bacteria and yeast initiates the fermentation of a starter tea (usually black or green tea with sugar), producing a biofilm that covers the liquid over several weeks. This happens through several fermentative phases that are characterized by cooperation and competition among the microbes within the kombucha solution. Yeast produce invertase as a public good that enables both yeast and bacteria to metabolize sugars. Bacteria produce a surface biofilm which may act as a public good providing protection from invaders, storage for resources, and greater access to oxygen for microbes embedded within it. The ethanol and acid produced during the fermentative process (by yeast and bacteria, respectively) may also help to protect the system from invasion by microbial competitors from the environment. Thus, kombucha can serve as a model system for addressing important questions about the evolution of cooperation and conflict in diverse multispecies systems. Further, it has the potential to be artificially selected to specialize it for particular human uses, including the development of antimicrobial ecosystems and novel materials. Finally, kombucha is easily-propagated, non-toxic, and inexpensive, making it an excellent system for scientific inquiry and citizen science.

**Subjects** Evolutionary Studies, Food Science and Technology, Microbiology

**Keywords** Fermentation, Cooperation, Conflict, Competition, Symbiosis, Community, Biofilm, Microbiome, Artificial selection, Evolution

### INTRODUCTION

Kombucha is a traditional tea beverage fermented by a symbiotic community of acetic acid bacteria (AAB) (*Acetobacteraceae*) and osmophilic yeast (*De Filippis et al., 2018*). While

Submitted 13 March 2019  
Accepted 29 July 2019  
Published 3 September 2019

Corresponding author  
Athena Aktipis, aktipis@asu.edu

Academic editor  
Joseph Gillespie

Additional Information and  
Declarations can be found on  
page 14

DOI 10.7717/peerj.7565

© Copyright  
2019 May et al.

Distributed under  
Creative Commons CC-BY 4.0

**OPEN ACCESS**

Активация W  
Чтобы активировать



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Functional Foods

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/jff](http://www.elsevier.com/locate/jff)

## Chemical composition and biological activity of novel types of kombucha beverages with yarrow



Jasmina S. Vitas<sup>a,\*</sup>, Aleksandra D. Cvetanović<sup>a</sup>, Pavle Z. Mašković<sup>b</sup>, Jaroslava V. Švarc-Gajić<sup>a</sup>, Radomir V. Malbaša<sup>a</sup>

<sup>a</sup> University of Novi Sad, Faculty of Technology Novi Sad, Bulevar cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Serbia

<sup>b</sup> University of Kragujevac, Faculty of Agronomy, Cara Dušana 34, 32000 Čačak, Serbia

### ARTICLE INFO

#### Keywords:

Fermentation  
Kombucha  
Yarrow  
Infusions  
Subcritical water extracts

### ABSTRACT

Kombucha beverages were produced by fermentation of new types of substrates – yarrow infusions and yarrow subcritical water extracts (SWE). Fermentation process parameters (pH, total acidity and yield of biomass), chemical composition (organic acids, total phenols and flavonoids and vitamin C content) and sensory analysis indicated that SWE were more suitable substrates for successful fermentation. Products obtained on infusions had more pronounced anticancer and antimicrobial properties whereas beverages produced on SWE had higher antioxidant potential.

### 1. Introduction

Kombucha is a fermented beverage which is globally consumed because of the health benefits reported by the users. This product has slightly acidic, carbonated and sweet taste, and is mostly prepared at home. Fermentation process is a result of the metabolic activity of kombucha culture (symbiosis of bacteria and yeasts) on sweetened black or green tea, as the most common substrates. During fermentation the cellulose pellicle layer is also produced by acetic acid bacteria, and this biofilm has numerous applications (Jayabalan, Malbaša, & Sathishkumar, 2016a). Successful kombucha fermentation is conducted in glass vessels under static conditions, on substrates that contain source of carbon (mostly sucrose) and nitrogen (different tea components) atom, protected from direct sunlight at room temperature. Although black and green tea are the most common substrates for its preparation, there are reports that infusions prepared from different medicinal plants can be used as well. Yarrow is a plant with a variety of applications, including medical, and is also used as a livestock feed. It is used as a food, for preparing infusions and as a spice. This herb has sweet and bitter taste. According to the scientific evidence, there are over a hundred active biological compounds in yarrow. Among the most notable are achilleine, apigenin, luteolin, azulene, camphor, coumarin, inulin, menthol, quercetin, rutin, succinic, salicylic and caffeic acids, thujone, etc. (Dervengji, 1977). This plant is widely used to treat various diseases including malaria, hepatitis and jaundice as well as for the treatment of wounds, hemorrhages, headaches,

inflammation, pain, spasmodic diseases, flatulence, and dyspepsia (Akram, 2013; Chandler et al., 1982; Benedek & Kopp, 2007; Lehane & Saliba, 2008). Yarrow is commonly consumed in a form of infusion and there is no scientific evidence about its use for kombucha preparation. Thus, this study is a first attempt to make kombucha beverage based on yarrow infusion as well as on its extracts obtained by subcritical water.

Subcritical water extraction is advanced extraction technique that is gaining increasing attention nowadays in the extraction and recovery of bioactive compounds from different natural matrices. The technique is based on the extraction with hot water at temperatures below its critical point while maintaining high pressures in order to keep the water in a liquid state during the whole extraction process. These conditions alter physico-chemical properties of water, influencing its solvating properties. The increase of the temperature of liquid water produces a series of effects, including improved mass transfer as a result of the drop in water surface tension that allows better penetration into sample matrix. Moreover, the mass transfer kinetics is favoured by the disruption of intermolecular forces (i.e., van der Waals forces, hydrogen bonds and dipole attractions) in the sample matrix. However, the most important effects of the increase in water temperature are the weakening of hydrogen bonds, resulting in a lower dielectric constant. Thus, the use of SWE could be an alternative to the use of non-polar organic solvents in some applications. From a green chemistry perspective, the avoidance of organic solvents provides additional advantages in the extraction of highly to medium polarity compounds. Due to numerous benefits that it offers, SWE are a great candidate for production of functional

\* Corresponding author.

E-mail address: [vitasj@uns.ac.rs](mailto:vitasj@uns.ac.rs) (J.S. Vitas).

<https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.09.014>

ФУНКЦИОНАЛИЗАЦИЯ  
Чтобы активировать

### Optimizing Glucuronic Acid Production Using Tea Fungus on Grape Juice by Response Surface Methodology

<sup>1</sup>Nafiseh Yavari, <sup>2</sup>Mahnaz Mazaheri Assadi, <sup>3</sup>Mohammad Bamani Moghadam, <sup>4</sup>Kambiz Larijani

<sup>1</sup>Young Researchers club, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

<sup>2</sup>Biotechnology Department, Iranian Research Organization for Science and Technology.

<sup>3</sup>Associated Professor, Department of Statistics, Alameh Tabatabaeei University, Tehran, Iran.

<sup>4</sup>Laboratory Complex, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran.

**Abstract:** Grape juice phytochemicals such as resveratrol and polyphenol antioxidants have been positively linked to inhibit cancer heart disease degenerative nerve disease viral infections and mechanisms of Alzheimer's disease. Glucuronic acid is the key component in human health due to its detoxifying action through conjugation to the xenobiotic metabolisms in liver and associated with cartilage, shown substantial benefit in the treatment of osteoarthritis. Here we report first analysis of evaluate the effect of treatment variables sucrose content temperature and cultivation time on glucuronic acid production (g/L) as well as monitored changes in pH, remained sucrose (g/L), reducing sugar (g/L) and total acidity (g/L) by using Kombucha layer on sweetened grape juice. Kombucha is a refreshing beverage obtained through the fermentation of sugared grape juice with a symbiotic culture of acetic bacteria and fungi consumed for its distinct antibiotic effects against the number of disease organisms and several therapeutic purposes in human medicine. Response surface methodology using Box-Behnken design showed that all the factors had a significant effect on glucuronic acid production. The optimum medium composition for predicted maximum glucuronic acid production was appeared on 7% sucrose-sweetened grape juice within two weeks of fermentation process at 37°C.

**Key words:** Kombucha; sweetened grape juice; glucuronic acid; response surface methodology; therapeutic purposes.

#### INTRODUCTION

Kombucha layer has been claimed to be a prophylactic and therapeutic agent to human health from weight loss to metabolic diseases, arthritis, indigestion, curing cancer, and AIDS (C. Dufresne and E. Farnsworth, 2000). Kombucha is a traditional beverage prepared by fermenting sweetened black tea with the tea fungus which is a symbiosis of *Acetobacter*, including *Acetobacter xylinum* as a characteristic species, and various yeasts, such as the genera of *Brettanomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Saccharomyces*, and *Pichia* depending on the source (P. Mayer, et al., 1995). It is consumed all around the world, but historically in China, Russia, Germany (P. Dipti, et al., 2003) and yet is quite popular in the West and Mediterranean region especially in Iran.

One of the main metabolites identified in the kombucha beverage is a glucuronic acid (C.H. Liu, et al., 1996). Glucuronic acid is a highly water-soluble carboxylic acid, that normally produced by a healthy liver, that can be converted into glucosamine and related chondroitin-sulfate are associated with cartilage, collagen and the fluid which lubricate the joints (Frank and Günther, 1991). Acetic acid bacteria take up the monosaccharides (glucose and fructose) that resulting from sucrose hydrolysis as carbon source in the cultivation medium by yeast invertase due to their hydrolases and kinases shortage (D. Cveticovic, et al., 2008). Kombucha layer researchers believe that, its detoxifying property is presumably due to the capacity of glucuronic acid binding to toxin molecules and increasing their excretion from the organism by the kidneys or the intestines (R. Jayabalan, et al., 2007). Butyric acid, also found in kombucha beverage protects human cellular membranes and combined with glucuronic acid strengthens the walls of the gut and also protects against parasites as a result of its bond to glucuronic acid (U. Mann, 1988).

Comparing diets among western countries, researchers have discovered that although they tend to eat higher levels of animal fat, surprisingly the incidence of heart disease remains low, a phenomenon, suggest occurring from protective benefits of regularly consuming grape wine (Wikimedia Foundation, Inc, 2008). Grape juice (GJ) phytochemicals such as resveratrol, bears a significant transcriptional overlap with the beneficial effects of caloric restriction in heart, skeletal muscle and brain (S. Das and D.K. Das, 2007), whereas anthocyanins tend to be the main polyphenolics that are attracting the efforts of scientists to define their properties for human health (E. Santos, et al., 2002).

During the fermentation process, bacteria and yeasts metabolize number of organic acids such as acetic acid and glucuronic acid (S.C. Chu and C. Chen, 2006), amino acids, antibiotics and a variety of micronutrients (R. Vijayaraghavan, et al., 2000). However, as a therapeutic substance or functional food, kombucha should be

**Corresponding Author:** Dr. Mahnaz Mazaheri Assadi, Biotechnology Department Iranian Research Organization for Science and Technology, No.71, Forest Street, Engdabab Ave, Tehran, Iran.  
 E-mail: mahnazmazaheri@gmail.com; Tel: 0098-21-88838350