



# НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) біотехнології та екологічного контролю

Кафедра біотехнології і мікробіології

Освітній ступінь бакалавр

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

(код і назва)

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

(назва)

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

**Завідувач кафедри**

біотехнології і мікробіології

Віктор СТАБНИКОВ

«01» березня 2024 року

## ЗАВДАННЯ

### НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

ГАЛЕЦЬКОГО Михайла Вячеславовича

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи «Одержання біомаси *Lactobacillus fermentum* (для виробництва пробіотичного кисломолочного продукту)»

керівник роботи професор д.т.н. СТАБНИКОВ Віктор Петрович

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

затверджені наказом закладу вищої освіти від 29.03.2024 року № 238-кв

2. Строк подання здобувачем роботи \_\_\_\_\_

3. Вихідні дані до роботи: біологічний агент: *Lactobacillus fermentum*; цільовий продукт: біомаса; геометричний об'єм ферментера:  $1 \text{ м}^3$ ; коефіцієнт заповнення: 0,5

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

5. Перелік графічного матеріалу

Технологічна схема біосинтезу біомаси - 1 аркуш формату А1

Апаратурна схема біосинтезу біомаси - 1 аркуш формату А1

## 6. Консультанти розділів роботи

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

7. Дата видачі завдання \_\_\_\_\_

## КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1.	<i>Характеристика цільового продукту</i>	<i>04.04.24-14.04.24</i>	
2.	<i>Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента</i>	<i>15.04.24-23.04.24</i>	
3.	<i>Техніко-економічне обґрунтування</i>	<i>24.04.24-29.04.24</i>	
4.	<i>Обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва</i>	<i>30.04.24-07.04.24</i>	
5.	<i>Специфікація обладнання</i>	<i>08.04.24-14.04.24</i>	
6.	<i>Опис технологічної схеми</i>	<i>14.04.24-20.05.24</i>	
7.	<i>Контроль виробництва</i>	<i>20.05.24-29.05.24</i>	
8.	<i>Оформлення кваліфікаційної роботи</i>	<i>29.05.24-01.06.24</i>	
9.	<i>Оформлення графічної частини</i>	<i>29.05. 4-01.06.24</i>	

**Здобувач**

\_\_\_\_\_

(підпис)

**Михайло ГАЛЕЦЬКИЙ**

\_\_\_\_\_

(ім'я та прізвище)

**Керівник роботи**

\_\_\_\_\_

(підпис)

**Віктор СТАБНІКОВ**

\_\_\_\_\_

(ім'я та прізвище)

## РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота присвячена розробленню технологічної та апаратурної схем біосинтезу біомаси *Lactobacillus fermentum*

Технологія виробництва біомаси включає допоміжні роботи (підготовка стерильного аераційного повітря, приготування 6%-ного розчину HCl з метою підкислення середовища для його стерилізації, приготування та стерилізація 6%-ного розчину калію гідроксиду для регуляції рН перед внесенням посівного матеріалу, приготування і стерилізація запасного розчину кальцію хлориду, підготовка і стерилізація поживних середовищ) та технологічний процес (чотири стадії вирощування посівного матеріалу (у колбах на качалках, в інокуляторах об'ємом 10, 100 л) та біосинтез у ферментері об'ємом 1 м<sup>3</sup> зі змінним коефіцієнтом заповнення 0.5. Розроблено карту постадійного контролю доферментаційних процесів і виробничого біосинтезу та зазначено методики контролю концентрації біомаси, цільового продукту (біомаси), амонійного азоту та технічного гліцерину.

Кваліфікаційна робота викладена на 89 сторінках, містить 13 таблиць, 6 рисунків, складається зі вступу, восьми розділів, списку використаної літератури (56 найменувань), 8 додатків, технологічної (формат А1, 1 аркуші) та апаратурної (формат А1, 1 аркуші) схем.

**Ключові слова:** пробіотик, дієтична добавка, *Lactobacillus fermentum* TCUESC01, продуцент.

## ABSTRACT

The qualification of the robot is devoted to the developed technological and hardware scheme for the biosynthesis of *Lactobacillus Fermentum* biomass

The biomass creation technology includes additional robots (preparation of a sterile aeration solution, preparation of a 6% HCl solution with the acidification method of sulfuric acid for its sterilization, preparation and sterilization of a 6% potassium hydroxide solution to adjust the pH before adding seed, preparation and sterilization of a spare calcium chloride solution, preparation and sterilization of living media) and technological processes (what methods of processing field material (in flasks in rocking chairs, in inoculators with a volume of 10, 100 l) and biosynthesis in fermenters with a volume of 1 m<sup>3</sup> with a minimum volume of filling factor of 0.5. stage-by-stage control of pre-fermentation processes and specific biosynthesis maps and methods for controlling the concentration of biomass, chemical product (biomas), ammonium nitrogen and technical glycerol are assigned.

Diploma project of attachments on 89 pages, have 13 tables, 6 drawings, stored in eight steps, sets, a set of literature (56 titles), 8 additions, technological (A1 format, 1 boxes) and hardware (A1 format, 1 arches) diagrams .

Key words: probiotic, dietary development, *Lactobacillus Fermentum TCUESC01*, producer.

## ЗМІСТ

РЕФЕРАТ.....	4
ВСТУП.....	8
РОЗДІЛ 1. Характеристика цільового продукту.....	9
РОЗДІЛ 2. Обґрунтування вибору та характеристика біологічного агента .....	12
2.1. Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування.....	12
2.2. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки біологічного агента.....	19
2.3. Таксономічний статус біологічного агента .....	20
РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування.....	21
3.1. Потреба у цільовому продукті.....	21
3.2. Розрахунок потужності виробництва.....	22
3.3. Розрахунок об'єму ферментера та кількості виробничих циклів...	23
3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу .....	24
РОЗДІЛ 4. Біосинтез цільового продукту.....	25
РОЗДІЛ 5. Обґрунтування вибору технологічної схеми.....	29
5.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера.....	29
5.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки аераційного повітря.....	30
5.3. Вибір мийних та дезінфікуючих засобів.....	32
5.4. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища....	45
РОЗДІЛ 6. Специфікація обладнання.....	47
РОЗДІЛ 7. Опис технологічної схеми.....	50

РОЗДІЛ 8. Контроль виробництва.....	56
8.1. Карта постадійного контролю.....	56
8.2. Мікробіологічний контроль.....	57
8.3. Показники росту і синтезу цільового продукту.....	59
8.4. Показники якості готового продукту .....	64
РОЗДІЛ 9 Охорона довкілля.....	74
ЛІТЕРАТУРА.....	84

## ВСТУП

Пробіотики — це живі мікроорганізми, які пропагуються із заявами про те, що вони приносять користь здоров'ю під час споживання, як правило, покращуючи або відновлюючи мікробіоту кишечника. Пробіотики вважаються загалом безпечними для споживання, але в рідкісних випадках вони можуть спричинити взаємодію бактерій і хазяїна та небажані побічні ефекти [1]

Поширеність захворювань, пов'язаних зі старінням, зростає відповідно до появи літнього населення, і функціональні продукти харчування, які забезпечують оздоровчий ефект для контролю старіння та довголіття, включаючи тривалість здоров'я, стали більш бажаними. Фізіологічні зміни, пов'язані зі старінням, включають порушення пам'яті та когнітивних функцій, пригнічення імунних реакцій і дисбактеріоз ремоделювання кісток [1]. Важливо, що середовище на ранньому етапі життя може значно вплинути на подальший розвиток, дозрівання та функціональність господаря. Зокрема, кишкова мікробіота співіснує в переважно симбіотичному партнерстві зі своїм господарем протягом усього життєвого циклу. При народженні колонізація мікробіотою бере участь у дозріванні кишкової бар'єрної функції та кишкового гомеостазу, а також імунної відповіді, включаючи вроджений адаптивний імунітет і імунітет хазяїна. Мікробіота зазнає різких змін у насиченості та складі в дорослому віці, сприяючи клітинному гомеостазу та виникненню захворювань у більш пізньому віці [2]

У промислово розвинених країнах функціональні продукти стали частиною повсякденного раціону, і доведено, що вони мають потенційну користь для здоров'я, крім загальновизнаного поживного ефекту. В даний час найбільш важливими функціональними харчовими сполуками, що часто використовуються, є пробіотики і пребіотики, відомі під загальною назвою «синбіотики».

					НУХТ БТЕК 04.01.10 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	ВСТУП	Літ.	Арк.	Аркушів
Розроб.		Галецький М.В.						
Перевір.		Стабніков В.П.					7	2
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Більш того, при і так здоровому образі молочні продукти здаються відмінним засобом для винаходу поживних продуктів. Такі пробіотичні молочні продукти благотворно впливають на господаря, покращуючи виживання та впроваджуючи живі мікробні харчові добавки в шлунково-кишкову флору, вибірково стимулюючи ріст або активуючи катаболізм однієї або обмеженої кількості корисних для здоров'я бактерій у кишковому тракті, а також шляхом поліпшення мікробного балансу [3,4]

## РОЗДІЛ 1.ХАРАКТЕРИСТИКА ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ

Пробіотики - це живі мікроорганізми, які приносять користь здоров'ю при вживанні чи нанесенні на організм. Їх можна знайти в йогурті та інших ферментованих продуктах, харчових добавках та косметичних засобах [5]

*Lactobacillus fermentum* є факультативним анаеробом що здатний рости на низьких концентраціях кисню [6]

Досліджуваний пробіотик характеризується високим вмістом фітинової кислоти, вважається антипоживною речовиною, оскільки вона утворює комплекси з мінералами та білками, перешкоджаючи поглинанню поживних речовин у кишечнику . Ферментація є ефективним методом підвищення поживної цінності, оскільки фітинова кислота може розкладатися бактеріальними фосфатазами, такими як фітаза .Певні молочнокислі бактерії мають ферменти фітази, які каталізують розпад фітинової кислоти в зернових під час бродіння; пшеничне тісто, ферментоване *Lactiplantibacillus plantarum* , *Levilactobacillus brevis* , *Latilactobacillus curvatus* та *Limosilactobacillus fermentum* значно знизив концентрацію фітинової кислоти. Молочнокислі бактерії відіграють важливу роль у ферментації зернових не лише для користі для здоров'я, виробляючи органічні кислоти, олігосахариди та поліфенольні сполуки, але й для кращого смаку, виробляючи леткі сполуки. Крім того, зернові культури, ферментовані молочнокислими бактеріями, часто доповнюють обмежений рівень амінокислот, таких як метіонін і лізин, які є незамінними амінокислотами для людини [6,7]

Сертифікований веганський продукт – АВА, американська асоціація вегетаріанців. Штам ME-3 лактобактерій ферментум (*Lactobacillus fermentum*), що виробляють глутатіон. Революційний антиоксидант та підтримка здоров'я імунної системи

					НУХТ БТЕК 04.01.10 КР ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 1.ХАРАКТЕРИСТИКА ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ		
Розроб.		Галецький М.В.			Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Стабніков В.П.				9	3
Реценз.					Кафедра БТМ		
Н. Контр.							
Затверд.		Стабніков В.П.					

Забезпечує підвищення внутрішньої енергії. А також містить основні вітаміни та лактобактерії бревіс (*Lactobacillus Brevis*) штаму КР08 20 років публікованих досліджень: Досягнення у дослідженнях пробіотиків змінюють здоров'я людини. Продукти Reg'Activ базуються на цих наукових відкриттях.



Рис.1.1. Пробиотик AVA

У 1995 році відзначений нагородами мікробіолог, доктор медичних наук Маріка Мікелсаар і група вчених-дослідників виділили унікальний штам пробіотиків, який міститься в організмах людей, що мають особливо сильну і збалансовану імунну систему. Лактобактерії ферментум (*Lactobacillus fermentum*) штаму ME-3 виробляють супер-антиоксидант глутатіон, який, як відомо, підтримує здорову імунну систему. Пробиотик від Reg'Activ Immune & Vitality поєднує в собі лактобактерії ферментум (*Lactobacillus fermentum*) штаму ME-3 з широко відомими інгредієнтами, що підвищують рівень енергії та імунітет, що забезпечує їх взаємно доповнює позитивний вплив на здоров'я. Додаток Reg'Activ Immune & Vitality містить революційний пробіотичний штам лактобацил ферментум (*Lactobacillus fermentum*) ME-3. Дослідження, що тривали понад 20 років, показали, що ME-3 виробляє супер-антиоксидант глутатіон, добре відомий своєю антиоксидантною, детоксикаційною та підтримуючою імунною системою дією. Пробиотик Immune

& Vitality включає штамп ME-3 та новий штамп лактобактерій бревіс (*Lactobacillus brevis*), KP08, виділений у Японії. Штамп KP08 сприяє збалансованому виробництву інтерферону- $\alpha$  (альфа), який, у свою чергу, підтримує здорову імунну відповідь. Цей унікальний склад пробіотиків забезпечує синергетичний ефект імунної системи. Він також містить тартрат амінокислоти L-карнітину для підтримки здорового рівня енергії. Незамінні вітаміни групи B та вітамін C забезпечують додаткову підтримку здоров'я імунної системи, збалансованого метаболізму та вироблення енергії. Рисове борошно, гіпромелоза та магнію стеарат рослинного походження. Продукт не містить молока, яєць, риби, молюски та ракоподібні, деревних горіхів, пшениці (глютена), арахісу та сої [8]

## РОЗДІЛ 2. Обґрунтування вибору біологічного агента

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

Для успішного культивування *Lactobacillus fermentum* та всіх інших мікроорганізмів потрібне збалансоване поживне середовище тобто яке містить сполуки що містять головні елементи ,або додатково ще містити мінорні елементи чи підживлювачі,багато хто ігнорує даний факти при культивуванні мікроорганізмів в результаті чого культура виростає у неповному обсязі або взагалі гине,тому правильно підібрані умови дають від технічної культури максимальний вихід поверхнево-активних речовин [5]

У таблиці 2.1 продемонстровані дані(склад та кількість поживного середовища,умови культивування,рівень біомаси,та джерела на латературу) для культивування різних штамів досліджуваних продуцентів пробіотиків ,а саме *Lactobacillus fermentum* TCUESC01, *Lactobacillus fermentum* 3872

У таблиці 2.2 наведено економічні розрахунки вартості окремих компонентів і в цілому поживних середовищ досліджувальних штам бактерій що є продуцентами пробіотичних продуктів

Далі були проведені розрахунки вартості 1 граму пробіотичного продукту(таблиця 2.3) ,з чого випливає що бактерія *Lactobacillus fermentum* TCUESC01 більш доцільним чим *Lactobacillus fermentum* 3872 це в першу чергу пов'язано з низькою вартістю першого поживного середовища,та більшого виходу продукту.

					НУХТ БТЕК 04.01.10 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 2. Обґрунтування вибору біологічного агента	Літ.	Арк.	Аркушів
Розроб.		Галецький М.В.						
Перевір.		Стабніков В.П.					12	7
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Таблиця 2.1.

## Умови культивування та склад поживного середовища у продуцентів пробіотику

Продуцент	Склад поживного середовища г/л	Умови культивування	Рівень біомаси, КУО/л	Література
<i>Lactobacillus fermentum</i> TCUESC01	Пептон - 10 м'ясний екстракт – 8 дріжджовий екстракт 4 глюкоза – 20 C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> NaO <sub>2</sub> – 5 K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> - 2 C <sub>6</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>7</sub> – 0.2 MnSO <sub>4</sub> · – 0.05 MgSO <sub>4</sub> – 0.2	t = 37 °C t = 24 год pH 6	5,8 × 10 <sup>8</sup>	Functional Profile Evaluation of <i>Lactobacillus fermentum</i> TCUESC01: A New Potential Probiotic Strain Isolated during Cocoa Fermentation.2017.Електронний ресурс: <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5541819/">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5541819/</a>

Закінчення таблиці 2.1.

<p><i>Lactobacillus fermentum</i> 3872</p>	<p>Панкреатичний гідролізат з казеїну - 10,0;  м'ясний екстракт - 8,0; дріжджовий екстракт - 4,0; глюкоза - 20,0;  фосфат калію двозаміщений - 2,0;  твін-80 - 1,0;  амоній лимоннокислий двозаміщений - 2,0;  ацетат натрію - 5,0;  MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O - 0,2;  MnSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O-0,04.</p>	<p>t = 18 год  37°C  рН 6,5</p>	<p>6,0×10<sup>8</sup></p>	<p>Pe´rez-Cano F. J., Honglin D., Yaqoob P. In vitro immunomodulatory activity of <i>Lactobacillus fermentum</i> CECT5716 and <i>Lactobacillus salivarius</i> CECT5713: two probiotic strains isolated from human breast milk. <i>Immunobiology</i>. 2010, 215(1): 996–1004. doi:/10.1016/j.micpath.2020.104063</p>
--	--	---	---------------------------	---

Таблиця 2.2

## Умовна вартість поживних середовищ

Продуцент	Компонент поживного середовища	Концентрація у ПС, г/л	Ціна компонента, грн/кг	Вартість компонента (грн) на 1 л середовища	Джерело інформації (1, 2, 3)
1	2	3	4	5	6
<i>Lactobacillus fermentum</i> TCUESC01	пептон	10	1200	12	1
	дріжджовий екстракт	4	1100	4,4	1
	глюкоза	2	138	2,76	1
	м'ясний екстракт	8	7296	58,368	2
	$C_2H_3NaO_2$	0.5	80	0,4	1
	$K_2HPO_4$	0.2	200	0.4	1

Табл.2.3

Умовна вартість 1 г поверхнево-активних речовин,  
синтезованих на суміші ростових субстратів

Біологічний агент	Концентрація біомаси КУО/л	Тривалість культивування, год	Кількість утворених КУО/год за годину, г/год	Вартість 1 л середовища, грн/л	Умовна вартість 1 г цільового продукту, грн/г
1	2	3	4	5	6
<i>Lactobacillus fermentum</i> TCUESC01	$5,8 \times 10^8$	24	$0,25 \times 10^8$	78.5784	13,548
<i>Lactobacill plantarum</i>	$6 \times 10^8$	18	$0,3 \times 10^8$	356,28	59,38

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

**Морфолого-культуральні ознаки.** *Lactobacillus fermentum* - це нерухомі паличкоядерні клітини, не утворює спор, Їхня колоніальна морфологія може варіюватися від малих до середніх сірих колоній, які зазвичай демонструють альфа-гемоліз на кров'яному агарі. *Lactobacillus fermentum* ростуть на різноманітних середовищах, включаючи агар, де вони виглядають як білі, як правило, мукоїдні колонії. Ідентифікація видів *Lactobacillus* здійснюється за допомогою молекулярних засобів (гени 16S рРНК), оскільки фенотипова ідентифікація, як правило, ненадійна.[7,8]

**Фізіолого-біохімічні ознаки.** *Lactobacillus fermentum* - грамм позитивні факультативні анаероби. Оптимальне значення рН коливається від 5.8 до 6, значить культура є ацидофільною. По відношенню до температури *Lactobacillus fermentum* є мезофілом.[9,10]

За типом живлення хемоорганогетеротроф. *Lactobacillus fermentum* синтезує АТФ за допомогою молочнокислого гетероферментативного бродіння. Як джерело вуглецю культура даних бактерій здатна споживати різні види вуглеводів (арабіноза, целобіоза , галактоза , мальтоза , маноза , мелібіоза , рафіноза , рибоза , сахароза, трегалоза та ксилоза). Аби пришвидшити бродіння можна скористатися ефектом Пастера, тобто потрібно зменшити концентрацію кисня до мінімуму щоб бродіння дало максимальну ефективність.[11,12]

**Таксономічний статус біологічного агента.** Сучасна таксономія для *Lactobacillus fermentum* наведена у Gen Bank.

Домен - Bacteria

Відділ – Firmicutes

Клас – Bacilli

Ряд – Lactobacillales

Родина – Lactobacillaceae

Рід – *Lactobacillus*

Вид – *Lactobacillus fermentum*

## РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування

### 3.1. Потреба у цільовому продукті

Пробіотики — це бактерії, які допомагають підтримувати здоров'я травлення та зміцнювати імунну систему. Ви можете приймати їх у вигляді дієтичних добавок або отримувати з харчових джерел, таких як йогурт. Але чи варто? У деяких випадках вони можуть бути корисними, але нам все одно потрібні додаткові дослідження, щоб дізнатися, чи є вони безпечними та ефективними для людей похилого віку.

Мікроби в нижніх відділах кишкового тракту допомагають нам перетравлювати їжу, боротися зі шкідливими бактеріями та регулювати імунну систему. Але іноді виникає дисбаланс мікробів, що призводить до діареї та інших проблем зі здоров'ям.

Коли кишечник стає незбалансованим через нездоровий рівень певних бактерій, пробіотики можуть допомогти відновити баланс. Було показано, що вони виділяють захисні речовини, які можуть увімкнути імунну систему та запобігти патогенним мікроорганізмам захоплюватися та викликати серйозні захворювання.

Пробіотики зазвичай використовуються для зменшення шлунково-кишкових симптомів, які не викликані гострим захворюванням, таких як гази, здуття живота та запор. Але нам потрібні додаткові дослідження, щоб визначити, у кого покращаться симптоми, особливо у літніх людей.

*L. fermentum*, як свідчать результати досліджень, також може позитивно впливати на імунітет, тривалість життя, уповільнювати процеси старіння та подовжувати так званий період "здорового життя".

Вивчення цієї теми продовжуються. На прикладі мишей вчені намагаються вдосконалити своє розуміння процесів старіння та потенційний вплив *L. fermentum* на них.

					НУХТ БТЕК 04.01.10 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 3. Техніко-економічне обґрунтування	Літ.	Арк.	Аркушів
Розроб.		Галецький М.В.					20	4
Перевір.		Стабніков В.П.						
Реценз.								
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						
						Кафедра БТМ		

## Характеристика препарату пробіотик ProbioTen - GymBeam

Міжнародна назва	Пробіотик ProbioTen - GymBeam
Форма випуску:	Капсули по 80 г
Діючі речовини	<i>Bifidobacterium animalis lactis</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus brevis</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium</i>
Допоміжні речовини	Інулін, стеарат магнію
Фармакотерапевтична група	Пробіотик

Найкращий час для приймання пробіотиків - це вранці, перед їжею або разом з їжею. Це допоможе забезпечити максимальну ефективність і виведення корисних бактерій у кишківник, де вони можуть найбільше допомогти в підтримці вашого здоров'я. Загалом, вибір між прийманням пробіотиків після антибіотиків чи одночасно з ними залежить від ваших потреб та порад лікаря. Головне - це забезпечити організму необхідні корисні бактерії для збереження здоров'я і підтримки імунітету.

## Вихідні дані для розрахунку річної потреби в пробіотику

Захворювання	Доза препарат у на добу мг	Тривалість прийому разом із повторним курсом, днів на рік	Кількість препарат у на 1 людину (в г) за курс	Частка очікуваних споживачів в пробіотик у , осіб	Загальна кількість препарат у на всіх хворих (кг)
дизбактеріоз	60	30	60	125000	7.52
Профілактика	60	30	60	2000000	120
<b>Загальна кількість 127,52 кг</b>					

**3.2. Розрахунок потужності виробництва.**

На сьогоднішній час найбільш потужне виробництво в Україні що відбувається у різних компаніях таких як Фармак Київмедпрепарат і тд.

Згідно з попередніми розрахунками, потреба в пробіотику для профілактики та лікуванню населенню України становить 3825 кг.

Враховуючи, що на ринку України високим попитом користується препарат NSP через свою високу якість та низьку націнку в порівнянні з іноземними препаратами пропоную виробляти 5 % загальної потреби.

Отже, вироблятимемо пробіотику в кількості:

$$G_{\text{гп}} = 3825 * 5\% / 100\% = 191.25 \text{ кг}$$

Обраний біологічний агент *Lactobacillus fermentum TCUESC01* синтезує пробіотик у концентрації 3 мг/мл (кг/м<sup>3</sup>) Об'єм культуральної рідини, необхідної для отримання 191.25 кг пробіотик, становить:

$$\begin{aligned} 3 \text{ кг} &- 1 \text{ м}^3 \\ 191.25 \text{ кг} &- X \text{ м}^3 \\ X &= 63.75 \text{ кг} \end{aligned}$$

З урахуванням втрат цільового продукту при виділенні (40%), необхідно отримати таку кількість культуральної рідини:

$$V_{\text{кр}} = 63.75 \cdot 1,4 = 89,25 \text{ кг}$$

### 3.3 Розрахунок геометричного об'єму ферментера

Для забезпечення річної потреби у пробыотику потрібно отримати (з урахуванням втрат під час виділен  $\text{м}^3$  культуральної рідини. Розрахуємо, скільки культуральної рідини потрібно отримати за цикл ферментації, щоб розрахувати кількість стадій приготування посівного матеріалу. Приймаємо кількість трудоднів – 300, тоді об'єм культуральної рідини за добу становить:

$$V_{\text{д}} = V_{\text{гп}} / T_{\text{тр}} = 3/300 = 0.01 \text{ м}^3$$

Кількість продукту за цикл буде становити:

$$V_{\text{цк}} = (K_1 * V_{\text{д}} * T_{\text{цф}}) / 24 = (1,5 * 0.01 * 144,5) / 24 = 0.09 \text{ м}^3 / \text{цикл},$$

де  $T_{\text{цф}}$  – цикл роботи ферментера, який включає тривалість виробничого біосинтезу (136 год) та час підготовки ферментера до роботи (8,5 год).  $K_1$  – коефіцієнт запасу, що враховує можливість нестерильних операцій ( $K_1 = 1,1 - 1,5$ ).

Визначивши об'єм КР за один цикл і знаючи коефіцієнт заповнення  $K_3$ , визначаємо геометричний об'єм ферментера:

$$V_{\text{г}} = V_{\text{цк}} / K_3 = 0.09 / 0,6 = 0.15 \text{ м}^2.$$

Згідно з таблицею, найближчим за геометричним об'ємом є ферментер  $V_{\text{ф}} = 0.3 \text{ м}^3$ .

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:  $K_3 = 0.3 / 0.63 = 0,47$  – не перевищує заданого значення

### 3.4. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу

Виробничий біосинтез здійснюють у ферментері об'ємом  $1 \text{ м}^3$  з коефіцієнтом заповнення 0,5. Робочий об'єм ферментера ( $V_{\text{роб}}$ ) визначають за формулою:

$$V_{\text{роб}} = V_{\text{г.ф}} \times K_{\text{зап}}$$

$$V_{\text{роб}} = 1 * 0.5 = 0.5 \text{ м}^3$$

Кількість посівного матеріалу (доза) становить 10 % від об'єму поживного середовища. Отже, для одержання  $0.5 \text{ м}^3$  культуральної рідини потрібно:

$$V_{\text{роб1}} = 0.5 * 0.1 = 0.05 \text{ м}^3 \text{ посівного матеріалу}$$

Таку кількість посівного (50 л) можна одержати у процесі вирощування у стандартному інокуляторі об'ємом  $0,1 \text{ м}^3$

$V_{розб2} = 0.05 * 0.1 = 0.005 \text{ м}^3 = 5 \text{ л}$  посівного матеріалу

Таку кількість посівного матеріалу можна одержати у процесі вирощування у інокулянті об'ємом 10 л

$V_{розб3} = 5 * 0.1 = 0.0005 \text{ м}^3 = 500 \text{ мл}$

Таку кількість інокуляту можна одержати культивуванням бактерій у колбах на качалці

## РОЗДІЛ 4. Біосинтез цільового продукту

Перетворення глюкози через глюконат на піруват відбувається в два етапи: глюконеогенез та цикл Кребса. Ці метаболічні шляхи відіграють важливу роль у забезпеченні організму енергією.

### 1. Глюконеогенез:

Глюконеогенез - це процес утворення глюкози з нецукрових вуглеводних субстратів, таких як піруват, лактат, гліцерин та деякі амінокислоти. Цей процес відбувається в цитоплазмі та мітохондріях клітин, і він особливо важливий у печінці та нирках.

Основні етапи глюконеогенезу:

Перетворення пірувату на оксалоацетат: Піруват, що утворюється в результаті гліколізу, транспортується в мітохондрії, де він перетворюється на оксалоацетат за допомогою ферменту піруваткарбоксилази. Ця реакція потребує енергії у вигляді АТФ.

Карбоксилування оксалоацетату: Оксалоацетат карбоксилується за допомогою ферменту фосфоенолпіруваткарбоксилази (ФЕП-карбоксилази) з утворенням фосфоенолпірувату (ФЕП). Ця реакція також потребує енергії у вигляді АТФ.

Глюконеогенетичний обхід: ФЕП перетворюється на фруктозо-6-фосфат за допомогою трьох незворотних ферментів гліколізу, які обходять етапи, що потребують великої кількості енергії. Ці ферменти:

Фосфоенолпіруваткарбоксикіназа (ФЕП-К)

Фруктозо-6-фосфатаза-1

Фруктозо-1,6-бісфосфатаза-1

Перетворення фруктозо-6-фосфату на глюкозу: Фруктозо-6-фосфат далі перетворюється на глюкозу за допомогою трьох ферментів гліколізу, які працюють у зворотному напрямку.

					НУХТ БТЕК 04.01.10 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 4. Біосинтез цільового продукту	Літ.	Арк.	Аркушів
Розроб.		Галецький М.В.						
Перевір.		Стабніков В.П.					25	4
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Ці ферменти:

-Глюкозо-6-фосфатаза

-Фосфоглюкомутаза

-Глюкозофосфатаза

2. Цикл Кребса:

Після утворення глюкози в цитоплазмі вона може використовуватися для різних цілей, включаючи синтез глікогену, ліпідів та амінокислот. Однак, якщо глюкоза не потрібна негайно, вона може перетворюватися на піруват за допомогою гліколізу. Піруват потім транспортується в мітохондрії, де він вступає в цикл Кребса.[expand\\_more](#)

Основні етапи циклу Кребса:

Конденсація ацетил-КоА з оксалоацетатом: Піруват декарбоксилюється та дегідрується з утворенням ацетил-КоА. Ацетил-КоА потім конденсується з оксалоацетатом з утворенням цитрату.[expand\\_more](#)

Дегідратація цитрату: Цитрат далі дегідратується з утворенням ізоцитрату.

Декарбоксилювання ізоцитрату: Ізоцитрат декарбоксилюється з утворенням  $\alpha$ -кетоглутарату.

Окиснення  $\alpha$ -кетоглутарату:  $\alpha$ -Кетоглутарат окислюється з утворенням сукциніл-КоА та вуглекислого газу.[expand\\_more](#)

Перетворення сукциніл-КоА на сукцинат: Сукциніл-КоА фосфорилується з утворенням сукцинату та ГТФ.

Окиснення сукцинату: Сукцинат окислюється з утворенням фумарату.

Гідратація фумарату: Фумарат

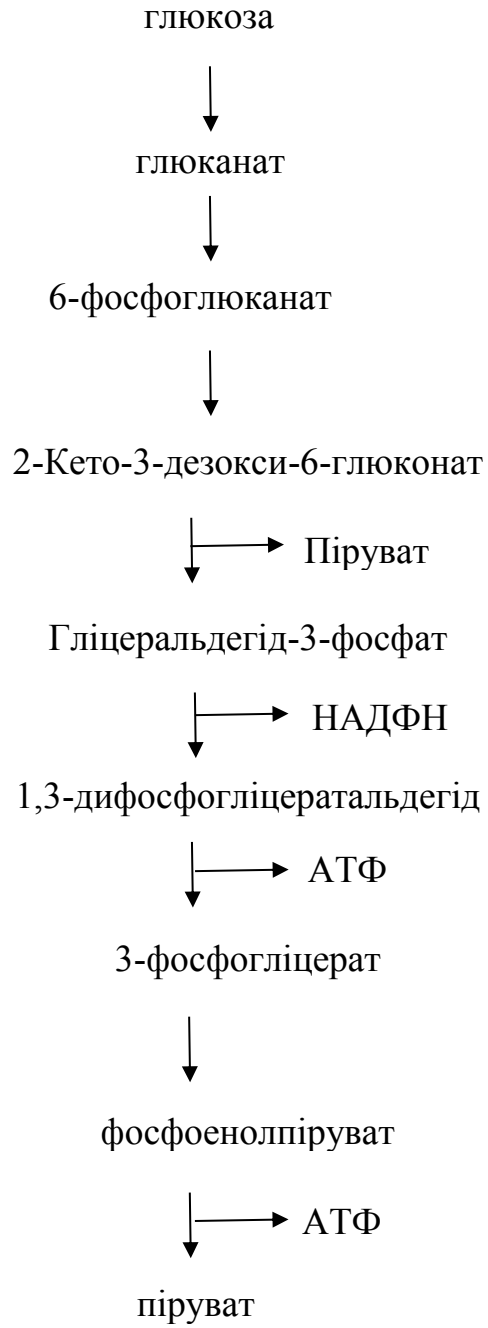


Рис.4.2 Схема перетворення 6-фосфогліцерату на піруват

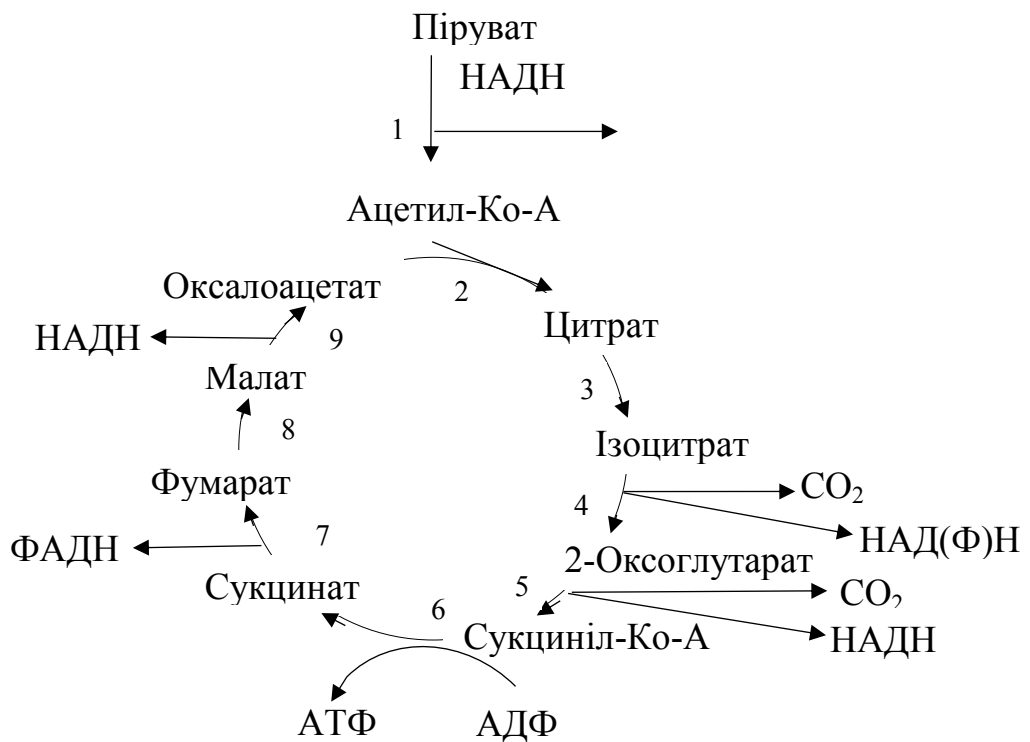


Рис. 4.3 Цикл трикарбонових кислот .

Ферменти, які брали участь : 1 - піруватдегідрогеназа; 2 – цитратсинтаза; 3 – аконітаза; 4 – ізоцитратдегідрогеназа; 5 – 2-оксоглутаратдегідрогеназа; 6 – сукцинаттіокназа; 7 – сукцинатдегідрогеназа; 8 – фумараза; 9 – малатдегідрогеназа.

ЦТК наявний у всіх живих організмів, оскільки виконує дві життєво важливі функції:

1. Є основним джерелом НАДН, наступне окиснення якого у дихальному ланцюгу генерує АТФ;

2. Проміжні продукти (оксалоацетат, сукцинат, 2-оксоглутарат) ЦТК є вихідними для процесів біосинтезу.

## РОЗДІЛ 5. Обґрунтування вибору технологічної схеми

### 5.1. Обґрунтування способу культивування і типу ферментера

Зростаюча потреба в *Lactobacillus fermentum*. використання в промисловості призвело до необхідності отримання високої щільності цих бактерій за низьких витрат на культивування. лактобацили характеризуються високою потребою в поживних речовинах через слабку здатність до синтезу амінокислот та вітамінів групи В. Тому їх культивування необхідно проводити на багатому середовищі, що включає ферментовані вуглеводи, нуклеїнові та амінокислоти, вітаміни групи В, а також різні мінерали. Крім того, *Lactobacillus fermentum*. Бактерії в основному використовують пептиди для задоволення своїх потреб в азоті. Для культивування LAB в лабораторних масштабах як джерело азоту зазвичай використовується м'ясний або дріжджовий екстракт; проте ці компоненти сприяють високій вартості зазвичай використовуваних середовищ де Мана, Рогози і Шарпа . Недорогі середні альтернативи шукають здебільшого серед харчових та сільськогосподарських побічних продуктів та відходів. Доведено, що такі злаки, як пшениця, ячмінь, кукурудза або жито, які зазвичай використовуються як корм для тварин, є хорошим джерелом поживних речовин для багатьох видів

Крім складу середовища *Lactobacillus fermentum*. на зростання може впливати набір різних умов, таких як температура, рН, концентрація кисню або активність води. Оптимальні умови температури та рН для зростання лактобацил становлять 30–40 °С та 5,5–6,2 відповідно; однак рід *Lactobacillus* різноманітний, і бактерії, що йому належать, можуть зростати при температурі від 2 до 53 °С і рН від 4,5 до 6,5, деякі штами можуть зростати при ще нижчому рН . Умови культивування, а також склад ферментаційного середовища, в якому ростуть *Lactobacillus fermentum* види бактерії, можуть впливати на параметри кінетики росту, такі як питома швидкість росту і тривалість лаг-фази, тобто час, протягом якого бактерії адаптуються до

					НУХТ БТЕК 04.01.10 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Галецький М.В.			РОЗДІЛ 5. Обґрунтування вибору технологічної схеми	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Стабніков В.П.					28	18
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

нового середовища і не розмножуються

Найбільш доречний метод культивування *Lactobacillus fermentum* є метод анаеробного глибинного культивування. В галузі мікробіології методи анаеробного культивування відрізняються від класичних методів аеробного культивування. Основна причина відмінності полягає в тому, що при роботі зі строго анаеробними мікроорганізмами необхідно запобігати впливу молекулярного кисню ( $O_2$ ) на організми. Це пов'язано з тим, що кисень токсичний для анаеробних мікроорганізмів різною мірою і залежно від мікроба і на їх окисно-відновлювальний потенціал, оптимальне значення якого відрізняється у різних анаеробних видів [7]

Так як в процесі бродіння буде утворюватися надлишок молочної кислоти що буде пригнічувати ріст культури потрібно періодично вносити луг аби нейтралізувати середовище [8]

Ферментер повинен бути обладнений трубопроводами або подавати поживне середовище до лактобактерій, та вивід продуктів метаболізму з середовища [9]

## **5.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки аераційного повітря**

*Lactobacillus fermentum TCUESC01* - факультативний анаероб, мікроорганізм здатен отримувати енергію із субстратів аеробним і анаеробним шляхом біологічного окиснення. Метаболізм цієї бактерії може здійснюватися як в умовах повного доступу  $O_2$  в середовище, так і в умовах відсутності кисню. Але найбільшу кількість біомаси бактерія виробляє при мікроаерофільних умовах культивування. Знаючи це можна зробити висновок, що підготовка стерильного аераційного повітря при культивуванні штаму *Lactobacillus fermentum TCUESC01* є однією з основних задач на біотехнологічному виробництві. Підготовка очищеного аераційного повітря включає декілька стадій, а

саме:

- Атмосферне повітря забирають через повітрязабірник ПЗ-1 на висоті 10-12;
- Для звільнення повітря від пилу, вологи та інших грубих часток повітря подають на фільтр грубого очищення Ф-2 класу G4 із синтетичних волокон 100% поліестера.

- Після цього повітря подають на компресор К-3, де проводять його стиснення до 0,25–0,45 МПа з метою подолання опору фільтрувальних

матеріалів на наступних стадіях фільтрування, а також подолання гідравлічного опору під час диспергування у культуральній рідині.

- Охолодження повітря проводять у теплообміннику-охолоджувачі Т-4 до 20°C. Далі видаляють вологу з повітря у ресивері Р-5, де вологість зріджується і виходить у вигляді конденсату.

- Через можливість утворення конденсаційної пари на наступних стадіях необхідно підігріти повітря. Підігрів здійснюють в теплообміннику-нагрівачі Т-

6. Температура має підвищитись до 30-32°C з врахуванням втрати тепла повітря при наступному його очищенні.

-Повітря подають до головного фільтру тонкої очистки Ф-7 класу фільтрації F7. Ступінь очищення має становити до  $E = 95\%$  (утримання часток розміром 1-3 мкм).

-Повітря надходить на фільтри тонкої очистки повітря з гофрованого фільтрувального паперу на основі ультра та мікротонкого скловолокна.

Ефективність очищення до 99,9995%. Фільтри Ф-19, Ф-27, Ф-36 встановлюються безпосередньо перед ферментаційним обладнанням

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

**Фамідез Санокварт № 12.2-18-5/20709 від 18.09.2019 р.**

**Склад засобу, вміст діючих та допоміжних речовин, мас. %:**

алкклдіметилбензиламонію хлорид - 6,66;

дидецилдиметиламонію хлорид - 3,33;

(діючі речовини), (сумарний вміст четвертинних солей амонію – 9,99); спирт

ізопропіловий <1,0, вода – до 100,0.

**Форма випуску і фізико-хімічні властивості засобу. Прозора**

безбарвна (або голубого чи жовтого кольору) рідина з характерним специфічним запахом поверхнево-активних речовин. Добре розчиняється у воді. Робочі розчини прозорі, безбарвні, мають слабкий специфічний запах поверхневоактивних речовин. Робочі розчини засобу "Фамідез® Санокварт" виявляють мийні властивості, не ушкоджують об'єкти із металу, скла, гуми та полімерних матеріалів, добре змиваються, не залишають нальоту.

Засіб "Фамідез® Санокварт" не сумісний з окисниками, аніонними поверхнево-активними речовинами, милами.

**Призначення засобу.** Поточна та заключна дезінфекція у лікувальнопрофілактичних закладах та вогнищах кишкових та крапельних інфекцій бактеріальної (крім туберкульозу), вірусної (включаючи парентеральні вірусні гепатити В і С, ВІЛ-інфекцію, поліовірус, вірус грипу, кору, епідемічного паротиту, ротавірусні гастроентерити, віруси ЕСНО, Коксакі та інш.) та грибкової (включаючи кандидози) етіології; профілактична дезінфекція у лікувально-профілактичних, дитячих та навчальних закладах різних рівнів акредитації, в аптечних закладах, на підприємствах фармацевтичної, мікробіологічної, парфумерно-косметичної та харчової промисловості; в оздоровчих закладах, у закладах сфери відпочинку і розваг, на комунальних об'єктах (готелі, кемпінги, гуртожитки, сауни, лазні, пральні, хімчистки тощо), на об'єктах комунально-побутового призначення (перукарні, салони краси, манікюрні, педикюрні, косметичні кабінети); в спортивно-оздоровчих комплексах; на рухомому складі та об'єктах забезпечення залізничного і автомобільного транспорту, у закладах ресторанного господарства і торгівлі, у соціальних закладах, у місцях громадського користування, на інших епідемічно значимих об'єктах, діяльність яких вимагає проведення дезінфекційних робіт відповідно до діючих санітарно-гігієнічних та протиепідемічних норм і правил, нормативно-методичних документів.

**Спектр антимікробної дії.** "Фамідез® Санокварт" виявляє бактерицидні (за винятком мікобактерій туберкульозу), віруліцидні (щодо збудників крапельних

інфекцій та інфекцій з парентеральним механізмом передачі збудника – гепатити, ВІЛ тощо), фунгіцидні (щодо грибів роду *Candida*) властивості [9]

### **Аніосепт актив**

#### **Склад засобу, вміст діючих та допоміжних речовин, мас. %:**

-перкарбонат натрію - 42,3-51,7;

-тетрацетілетілендіамін - 22,5-27,5;

#### **Форма випуску і фізико-хімічні властивості засобу.**

Засіб АНІОСЕПТ АКТИВ UA - концентрат у вигляді дрібнодисперсного порошку білого кольору з легким характерним запахом, добре розчиняється у воді. Засіб не має окислювальних властивостей. Засіб застосовується у вигляді водних робочих розчинів. Робочий розчин АНІОСЕПТ АКТИВ UA - безбарвна прозора рідина з легким характерним запахом, рН 1,0% робочого розчину 8,0-11,0. Робочі розчини засобу мають гарні миючі властивості, не викликають корозії виробів з нержавіючої сталі. Чи не пошкоджують поверхні з скла, полімерних матеріалів, гуми, дерева, кахлю, порцеляни, фаянсу. Робочі розчини добре змиваються, не залишаючи нальоту і плям на поверхнях об'єктів, які обробляються. Видаляють неорганічні і органічні забруднення, включаючи білкові, жирові забруднення, залишки крові, залишки лікарських засобів із зовнішніх поверхонь, внутрішніх каналів виробів медичного призначення, гомогенізують мокротиння та інші виділення. Робочі розчини засобу застосовують для миття та дезінфекції інструментів в ультразвукових ваннах. Розчини засобу використовують для дезінфекції поверхонь вологого дерева від цвілевих грибів. Засіб не придатний для поверхонь виробів виготовлених з алюмінію, латуні, міді і сталі з гальванічним, титановим і карбід вольфраму покриттями. Концентрат засобу стабільний при температурі від + 5 ° С до + 30 ° С. Засіб біологічно розпадається.

#### **Призначення засобу.**

Засіб АНІОСЕПТ АКТИВ UA призначений для:

1. дезінфекції, суміщених процесів дезінфекції та передстерилізаційного очищення (ручним, механізованим способами і в установках ультразвукового очищення):
  - виробів медичного призначення (ВМП), в т.ч. інструментів, виготовлених з різних матеріалів, включаючи оглядові, хірургічні, гінекологічні, офтальмологічні, стоматологічні тощо;
  - ВМП з термостабільних і термолабільних матеріалів, включаючи жорсткі та гнучкі ендоскопи та інструменти до них;
  - інструментів в установах комунально-побутового призначення (Косметологічні клініки та салони, манікюрні, педикюрні, косметичні кабінети, перукарні і т.п.);
  - інструментів на підприємствах парфумерно-фармацевтичної, косметичної та мікробіологічної промисловості;
2. дезінфекції високого рівня гнучких ендоскопів;
3. стерилізації, в т. Ч інструментарію та інших виробів медичного призначення;
4. знезараження поверхонь в приміщеннях, контамінованих спороутворюючими бактеріями, в т. Ч. на підприємства парфюмерно-косметичної, фармацевтичної, мікробіологічної та біотехнологічної промисловості;
5. поточної і заключної дезінфекції в закладах охорони здоров'я, в осередках інфекційних захворювань бактеріальної (включаючи туберкульоз), вірусної і грибкової етіології;
6. для знищення та попередження виникнення цвілі;
7. в побуті;
8. профілактичної дезінфекції:
  - в установах охорони здоров'я (хірургічні, реанімаційні, терапевтичні, акушерські, гінекологічні, неонатологічні, офтальмологічні, дитячі, фізіотерапевтичні, патологоанатомічні та інші відділення лікувальних закладів; стоматологічні клініки, амбулаторії, поліклініки; реабілітаційні, перинатальні, репродуктивні центри, центри паліативної медицини; клінічні,

біохімічні, серологічні, бактеріологічні, вірусологічні, імунологічні та інші профільні діагностичні лабораторії; станції швидкої і невідкладної медичної допомоги; донорські пункти, пункти і центри переливання крові, хоспіси)

- в медико-санітарних частинах, фельдшерсько-акушерських та медичних пунктах; лабораторіях різних підпорядкувань;
- в аптеках, аптечних кіосках, аптечних пунктах, аптечних складах;
- в санаторно-профілактичних установах; оздоровчих закладах (санаторії, профілакторії, будинки відпочинку та інші);
- в дитячих дошкільних установах, навчальних закладах різних рівнів акредитації;
- на підприємствах парфумерно-косметичної, фармацевтичної, мікробіологічної та біотехнологічної промисловості;
- на підприємствах харчопереробної промисловості (кондитерської, м'ясопереробної, виготовлення безалкогольних напоїв та ін.)
- в сфері ресторанного господарства і торгівлі, ринках, харчоблоках, пунктах роздачі їжі і т.д .;
- на всіх видах транспорту (громадський, залізничний, морський, річковий, автомобільний, повітряний, метрополітен), вокзалах, аеропортах;
- в банківських установах, закладах зв'язку;
- в спортивно-оздоровчих установах (спорткомплекси, стадіони, басейни, а також місця проведення тренувань, змагань, навчально-тренувальних зборів);
- на об'єктах комунально-побутового обслуговування (готелі, кемпінги, гуртожитки, перукарні, хімчистки, косметологічні клініки та салони, солярії, SPA-центри, пральні, лазні та сауни, аквапарки і т.д.);
- в установах пенітенціарної системи;
- в установах соціального захисту;- у військових частинах, підрозділах МО, МВС, ДСУНС, СБУ, АТО тощо;
- на промислових підприємствах, складах і сховищах, включаючи паперові архіви, сховища продуктів харчування, предметів гігієни тощо;
- на об'єктах водопостачання та каналізації, підприємствах по сортуванню і переробки сміття, громадських туалетів, біотуалетах тощо;



-вірулецидні властивості, в тому числі по відношенню до вірусних гепатитів А, В і С, ВІЛ-інфекції, поліовірусу типу 1, вірусу Ебола, вакцінія-, адено-, рота, поліома-, норовірусів і ін. (Атестований згідно Європейському стандарту EN 14476) [10]

## **ГРІН ЛАЙН ФОРТЕ**

### **Склад засобу, вміст діючих та допоміжних речовин, мас. %:**

- суміш ЧАС – 20 %,
- глутаровий альдегід – 5 %

### **Призначення засобу.**

- для дезінфекції, суміщеної та не суміщеної із передстерилізаційним очищенням, стерилізації виробів медичного призначення (включаючи хірургічні і стоматологічні, жорсткі та гнучкі ендоскопи та інструменти до них);
- дезінфекції високого рівня ендоскопів;
- дезінфекції стоматологічних відбитків, зубопротезних заготовок, відсмоктувальних систем;
- для поточної та заключної дезінфекції генеральних прибирань у ЛПУ, дитячих дошкільних та навчальних закладах, громадському транспорті та у вогнищах інфекційних захворювань;
- дезінфекції білизни, посуду столового та лабораторного;
- дезінфекції медичних, харчових та інших відходів;
- дезінфекції виробів медичного призначення одноразового використання та використаного перев'язувального матеріалу, прибирального інвентарю.

### **Спектр антимікробної дії.**

Антимікробна активність щодо грамнегативних та грампозитивних бактерій, включаючи збудників внутрішньо-лікарняних інфекцій (*S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*) та збудників туберкульозу; віруліцидні, включаючи збудників гепатитів

A, B, C, ВІЛ, полівіруси, збудників грипу тому числі грип А(Н5N1) "пташиний грип" , "свинячий грип" парагрипу та інших респіраторних вірусних інфекцій, спороцидні, миючі , дезодоруючі властивості .

**touch protect.** №12.2-18-5/1496 від 03.02.2020 р.

**Склад засобу, вміст діючих та допоміжних речовин, мас. %:**

алкілдиметилбензиламоніум хлорид – 13%

дидецилдиметиламоній хлорид – 10%

полігексаметиленгуанідин гідрохлорид 2%

**Форма випуску і фізико-хімічні властивості засобу.**

Дезінфікуючий засіб, призначений для гігієнічної дезінфекції рук, шкіри і поверхонь. Має широкий спектр дії (віруліцидну, бактерицидну, фунгіцидну). Знищує бактерії, віруси (вкл. парентеральні вірусні гепатити, ВІЛ), грибки. Дезінфекційний спрей «Touch Protect» - це готовий розчин для зовнішнього застосування. Не потребує використання води і ополіскування. Об'ємна частка спирту становить не менше 70%.

**Призначення засобу.**

- гігієнічна дезінфекція рук;
- хірургічна дезінфекція рук;
- антисептична обробка шкіри, операційного та ін'єкційного полів шкіри, ліктьових згинів;
- антисептична обробка шкіри ніг (стопи) з метою профілактики грибкових захворювань;
- дезінфекція поверхонь: медичних; лікувально-профілактичних і оздоровчих установ; ресторанно-готельного бізнесу, закладах громадського харчування, торгівлі, косметичних та перукарських салонах; дитячих і навчальних закладах; автомобільному, авіаційному, залізничному та громадському транспорті;

- виробів: медичного призначення, стоматологічних інструментів, перукарського, манікюрного та косметологічного інструментарію.

### **Спектр антимікробної дії.**

- має широкий спектр дії (віруліцидну, бактерицидну, фунгіцидну);
- знищує бактерії, віруси (вкл. парентеральні вірусні гепатити, ВІЛ), грибки;
- не потребує використання води, змивання і висушування шкіри;
- легко наноситься на шкіру за допомогою розпилювача;
- пом'якшує шкіру, зберігає її еластичність і природний водно-жировий баланс;
- залишає приємне відчуття чистої, доглянутої і зволоженої шкіри;
- об'ємна частка спирту становить не менше 70%.

### **Фамідез**

#### **Склад засобу, вміст діючих та допоміжних речовин, мас. %:**

формальдегід - 7,6%

глутаровий альдегід - 4,5%

гліколевий ефір – 5-15%;

алкогольетоксилат – 5-15%;

запахка, барвник, вода - до 100,0.

#### **Форма випуску і фізико-хімічні властивості засобу.**

Прозора рідина зеленого кольору з характерним запахом використаної запахки. Добре розчиняється у воді. Робочі розчини прозорі, помірно забарвлені у зелений колір, мають слабкий запах використаної запахки, виявляють мийні властивості. Не ушкоджують вироби медичного призначення із металу, скла, гуми та полімерних матеріалів, добре змиваються, не залишають нальоту. Засіб "Фамідез® форте" не сумісний з окислювачами, аніонними поверхнево-активними речовинами, милами.

## **Призначення засобу.**

Дезінфекція, суміщення процесів дезінфекції та достерилізаційного очищення виробів медичного призначення із металу, скла, емалі, кераміки, фарфору, гуми, полімерних матеріалів (в тому числі гнучкі та жорсткі ендоскопи, термочутливі матеріали для анестезії, стоматологічний інструментарій, лабораторні обладнання та посуд, обладнання та інструменти для проведення косметологічних процедур) у закладах охорони здоров'я (лікувально-профілактичних, санітарно-профілактичних та лікувально-оздоровчих закладах, клініко-діагностичних, бактеріологічних, вірусологічних, серологічних та інших лабораторіях, аптеках), на комунальних і промислових об'єктах, включно із косметологічними клініками, манікюрними і педикюрними салонами і кабінетами, при кишкових і крапельних інфекціях бактеріальної (включаючи туберкульоз), вірусної (включаючи парентеральні вірусні гепатити В і С, ВІЛ-інфекцію, поліовірус, вірус грипу, кору, епідемічного паротиту, ротавірусні гастроентерити, віруси ЕСНО, Коксакі та інш.) та грибової (включаючи кандидози) етіології. Дезінфекція високого рівня та стерилізація виробів медичного призначення, включаючи гнучкі і жорсткі ендоскопи та інструменти до них. Засіб може бути використаний для дезінфекції та достерилізаційного очищення ультразвуковим методом.

## **Специфічні біологічні властивості засобу.**

"Фамідез® форте" виявляє бактерицидні, туберкулоцидні, віруліцидні (щодо вірусів гепатитів В і С, ВІЛ, поліо, грипу, кору, епідемічного паротиту, ЕСНО, Коксакі, ротавірусних гастроентеритів та інш.), фунгіцидні (щодо грибів роду *Candida*) та спороцидні властивості. Засіб виявляє мийні властивості, видаляє білкові, жирові забруднення та залишки крові з поверхонь виробів медичного призначення [11]

## **ПРАЙМДЕЗ КОМБІ**

**Склад засобу, вміст діючих та допоміжних речовин, %(за масою):**

N-(3-амінопропіл)-N-додецилпропан-1,3-діамін – 5,23–5,77;

дидецилдимер-тиламонію хлорид – 3,15–3,85;

допоміжні речовини: додаткові речовини згіднозформулою засобу, вода – до 100 %.

## **. Форма випуску та фізико-хімічні властивості засобу**

Засіб випускають у вигляді концентрованого розчину. Це прозорий розчин, відбезбарвного до жовтуватого кольору з сосновим запахом. Водневий показник (рН) засобу за 20 оС – 8,8–9,4, густина за 20 оС – 1,049–1,059 г/см<sup>3</sup>. Засіб добре змішується з водою, його застосовують у вигляді робочих розчинів. рН 0,25%-го робочого розчину засобу близько 8,0. Робочі розчини засобу мають досконалі мийні та дезодоруючі властивості, добре змочують поверхні, ефективно розчиняють і видаляють забруднення будь-якого походження (у тому числі білкові, жирові, рештки крові, лікарських засобів тощо) з поверхонь, малопінні, легко змиваються з поверхонь, не залишають нальоту, не пошкоджують і не знебарвлюють об'єкти, що обробляються, не зменшують міцність тканин. Легкий приємний запах засобу створює відчуття свіжості, прохолодної та здорової атмосфери. Розчинами засобу можна обробляти вироби і поверхні з різних матеріалів. Робочі розчини не викликають корозії об'єктів, виготовлених з алюмінію, міді, латуні, нержавіючої сталі, не пошкоджують поверхні виробів із лакофарбовим і гальванічним покриттям, керамічні поверхні, вироби з граніту, нікелю, титану, тефлону, скла, дерева, поліаміду, поліетилену, поліпропілену, поліуретану, полівінілхлориду, акрилбутадієнстиролу, силікону, нітрилу, акрилового скла та інших полімерних матеріалів. Засіб не можна змішувати з милами та аніонними поверхнево-активними речовинами. Дезінфекційний засіб ПРАЙМДЕЗ КОМБІ не містить окисників, не належить до категорії горючих і вибухонебезпечних, біологічно розкладається.

## **Призначення засобу ПРАЙМДЕЗ КОМБІ**

призначений для професійного застосування з метою:

- дезінфекції, суміщених процесів дезінфекції та достерилізаційного очищення виробів медичного призначення, в тому числі інструментарію (хірургічного, мікрохірургічного, стоматологічного та ін.);
- дезінфекції, суміщених процесів дезінфекції та достерилізаційного очищення перукарського, манікюрного, педикюрного, косметичного інструментарію і приладдя в закладах сфери обслуговування (перукарні, салони тощо);

- поточної та заключної дезінфекції в закладах охорони здоров'я, осередках інфекційних захворювань бактеріальної (включно з туберкульозом), вірусної та грибкової (включно з кандидозами, дермато мікозами) етіології;
- профілактичної дезінфекції: – у закладах охорони здоров'я (хірургічні, терапевтичні, акушерські, гінекологічні, неонатологічні, офтальмологічні, дитячі, фізіотерапевтичні, патологоанатомічні та інші відділення лікувально-профілактичних закладів; стоматологічні клініки, амбулаторії, поліклініки; перинатальні, репродуктивні, реабілітаційні центри, центри паліативної медицини; клінічні, біохімічні, серологічні, бактеріологічні, вірусологічні та інші профільні діагностичні лабораторії; станції швидкої та невідкладної медичної допомоги, донорські пункти, пункти переливання крові, хоспіси та ін.);
  - у медико-санітарних частинах, фельдшерсько-акушерських, медичних пунктах;
  - в автомобілях швидкої та невідкладної медичної допомоги; – в аптеках, аптечних пунктах, аптечних складах; – в санаторно-курортних та оздоровчих закладах (санаторії, профілакторії, будинки відпочинку тощо);
  - у дитячих дошкільних закладах, навчальних закладах різних рівнів акредитації;
  - на підприємствах парфумерно-косметичної, фармацевтичної, мікробіологічної та біотехнологічної промисловості;
  - в лабораторіях різних підпорядкувань; – на підприємствах харчової промисловості, ресторанного господарства і торгівлі, харчоблоках, пунктах роздачі їжі тощо; – в усіх видах транспорту (громадський, залізничний, морський, річковий, автомобільний, повітряний, метрополітен), вокзалах, аеропортах тощо;
  - в банківських установах; – у закладах зв'язку; – у закладах соціального захисту; – в спортивно-оздоровчих закладах (спорткомплекси, стадіони, басейни, місця проведення тренувань, змагань, навчально-тренувальних зборів тощо);
  - на об'єктах комунально-побутового призначення (готелі, гуртожитки, кемпінги, перукарні, хімчистки, косметологічні клініки і салони, солярії, SPA-центри, пральні, лазні, сауни, аквапарки тощо);

- у військових частинах, підрозділах МО, МВС, ДСУНС, СБУ;
- в установах пенітенціарної системи; – на промислових підприємствах, складах, сховищах, включно зі складами продуктів харчування, предметів гігієни, паперових архівів тощо [12]

Для визначення поверхонь, які мають митись та дезинфікуватись, скористаємось специфікацією обладнання, де вказані його габаритні розміри. У ферментаційному відділенні встановлені інокулятор, посівний апарат та виробничий ферментер. Загальна площа приміщення, де встановлено дане обладнання становить 7 м × 2 м. Враховуючи, що поверхня стін даного приміщення теж підлягає миттю та дезінфекції на висоту 2,8 м, загальна площа обробки складе

$$\sum F = (7\text{ м} \times 2\text{ м}) + (7\text{ м} + 7\text{ м} + 2\text{ м} + 2\text{ м}) \times 2,8\text{ м} = 14\text{ м}^2 + 64,4\text{ м}^2 = 78,4\text{ м}^2$$

Таблиця 5.1.

### Узагальнена характеристика витрат миючих та дезинфікуючих засобів для виробництва пробіотиків

Назва засобу	Об'єкт миття та/або дезінфекції	Концентрація робочого розчину, %	Вартість 1 л (кг) мийного або дез. засобу, Грн/л(кг)	Вартість 1 л робочого розчину мийного або дез.засобу, Грн/л	Витрати роб.розчину, л/м <sup>2</sup>	Ефективність використання дез.розчину, Е <sub>дз</sub> , Грн/м <sup>2</sup>
Санокварт	Підлога	<b>0.2</b>	<b>836</b>	<b>1.6</b>	<b>0.1</b>	<b>12.55</b>
АНІОСЕПТ АКТИВ	Обладнання, інвентар, комунікації, тара	<b>0.2</b>	<b>342</b>	<b>0.68</b>	<b>0.1</b>	<b>5.33</b>
ГРІН ЛАЙН ФОРТЕ	Стіни, поверхні обладнання, двері, вікна	<b>0.4</b>	<b>599</b>	<b>2.39</b>	<b>0.1</b>	<b>18.73</b>

Закінчення таблиці 5.1.

TOUCH PROTECT	Обладнання, інвентар, комунікації, тара	<b>0.9</b>	<b>285</b>	<b>2.56</b>	<b>0.1</b>	<b>20.07</b>
Фамідез	Стіни, поверхні обладнання, двері, вікна	<b>0.25</b>	<b>921</b>	<b>2.30</b>	<b>0.1</b>	<b>18.032</b>
ПРАЙМДЕЗ КОМБІ	Обладнання, інвентар, комунікації, тара	<b>0.25</b>	<b>600</b>	<b>1.5</b>	<b>0.1</b>	<b>11.76</b>

Як можемо побачити на таблиці найбільш ефективними дезінфікуючими засобами будуть санокварт аніосепт актив та праймдейз комбі.

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

Склад поживного середовища для культивування *Lactobacillus fermentum TCUESC01* (г/л):

Пептон - 10

м'ясний екстракт – 8

дріжджовий екстракт 4

глюкоза – 20

$C_2H_3NaO_2$  – 5

$K_2HPO_4$ - 2

$C_6H_{17}N_3O_7$  – 0.2

$\text{MnSO}_4$  – 0.05

$\text{MgSO}_4$  – 0.2

Проаналізувавши склад поживного середовища для культивування *Lactobacillus fermentum TCUESC01*, умовно ділимо його на такі композиції (залежно від режиму стерилізації певних компонентів)

*Композиція А:* дріжджовий екстракт, глюкоза пептон, м'ясний екстракт (режим стерилізації: 112°C, 30 хв, 0,05 МПа)

*Композиція Б:*  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{C}_6\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_7$ ,  $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$  (режим стерилізації: 131 °С, 40 хв)

*Композиція В:*  $\text{MgSO}_4$   $\text{MnSO}_4$  (режим стерилізації: 131°C, 60 хв, 0,15 МПа)

Згідно розрахунків, виробничий синтез біомаси здійснюється у ферментері об'ємом 1 л, що містить 500 л середовища. Одержання інокуляту відбувається у 3 етапи (у колбах в термостаті та посівному апараті об'ємом 100 л та 10 л).

### **Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для вирощування інокуляту на колбах на качалці**

*Композиція А:* дріжджовий екстракт, глюкоза пептон, м'ясний екстракт (режим стерилізації: 112°C, 30 хв, 0,05 МПа)

*Композиція Б:*  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{C}_6\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_7$ ,  $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$  (режим стерилізації: 131 °С, 60 хв 0,15 Мпа)

*Композиція В:*  $\text{MgSO}_4$   $\text{MnSO}_4$  (режим стерилізації: 131°C, 60 хв, 0,15 Мпа)

### **Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для вирощування інокуляту в посівних апаратах 10 л**

*Композиція А:* дріжджовий екстракт, глюкоза пептон, м'ясний екстракт (режим стерилізації: 112°C, 30 хв, 0,05 МПа)

*Композиція Б:*  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{C}_6\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_7$ ,  $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$  (режим стерилізації: 131 °С, 40 хв)

*Композиція В:*  $\text{MgSO}_4$   $\text{MnSO}_4$  (режим стерилізації: 131°C, 60 хв, 0,15 Мпа)

**Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для вирощування інокуляту в посівних апаратах 100 л**

*Композиція А:* дріжджовий екстракт, глюкоза пептон, м'ясний екстракт (режим стерилізації: 112°C, 30 хв, 0,05 МПа)

*Композиція Б:*  $K_2HPO_4$ ,  $C_6H_{17}N_3O_7$ ,  $C_2H_3NaO_2$  (режим стерилізації: 131 °C, 40 хв)

*Композиція В:*  $MgSO_4$   $MnSO_4$  (режим стерилізації: 131°C, 60 хв, 0,15 Мпа)

**Особливості підготовки і стерилізації поживного середовища для вирощування інокуляту в ферментері 1 м<sup>3</sup>**

*Композиція А:* дріжджовий екстракт, глюкоза пептон, м'ясний екстракт (режим стерилізації: 112°C, 30 хв, 0,05 МПа)

*Композиція Б:*  $K_2HPO_4$ ,  $C_6H_{17}N_3O_7$ ,  $C_2H_3NaO_2$  (режим стерилізації: 131 °C, 40 хв)

*Композиція В:*  $MgSO_4$   $MnSO_4$  (режим стерилізації: 131°C, 60 хв, 0,15 Мпа)

## РОЗДІЛ 6. Специфікація обладнання

У таблиці 6.1 наведено специфікацію технологічного обладнання, зображеного на апаратурній схемі у графічній частині курсового проєкту.

Таблиця 6.1

### Специфікація ділянки культивування пробіотику

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика
1	2	3	4
Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика (виробник)
б/п	Об'ємно-вагові дозатори	6	Регульований об'ємно-ваговий дозатор для рідких та сипучих компонентів фірми «Pagus» ( [71].
ПЗ-1	Повітрязабірник	1	Повітрязабірник обладнаний металевією сіткою для видалення механічних забруднень
Ф-2	Фільтр грубої очистки	1	Фільтр панельний фірми «Селтон» Фільтрключий матеріал - мільтблоун, скловолокну типу Dust Stop. Швидкість фільтрування 0,1 м/с, E = 89 % [74].
К-3	Компресор	1	Турбокомпресор GX 7 фірми Atlas Copco (Швеція), потужність 14 л/с, робочий тиск 1 МПа [75].
Т-4	Теплообмінник-охолоджувач	1	Теплообмінник-охолоджувач серії AFR 11 фірми «УКРТЕЛЕФОРМ» , "5 продуктивність 66 м /год [76].

					НУХТ БТЕК 04.01.10 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 6. Специфікація обладнання	Літ.	Арк.	Аркушів
		<i>Галецький М.В.</i>				46	3	
		<i>Стабніков В.П.</i>				<b>Кафедра БТМ</b>		
		<i>Стабніков В.П.</i>						

Р-5	Ресивер	1	Ресивер серії РВ 230/10 фірми «Уралкомпресормаш» (Росія), об'єм 230 л, робочий тиск 1МПа [76].
Т-6	Теплообмінник - нагрівач	1	Теплообмінник-нагрівач фірми ALFA LAVAL серії TS-M (Україна) [77].
Ф-7	Фільтр тонкої очистки	1	Фільтр компактний ФТОП-К фірми «Технофільтр» (Україна). Фільтруючий матеріал - поліестр, мікроскловолокно. Продуктивність - 3300 м/год, E = 98,96 %, Vj, - 0,01 м/с [78].
Ф-8 Ф-15 Ф- 23	Фільтри індивідуаль ної очистки	3	Фільтри фірми «Селтон» (Україна). Фільтруючий матеріал - вологостійке скловолокно виробництва компаній H&V (Німеччина), Ahlstrom (Фінляндія) [78].
Р-10 Р-17	Реактор- змішувач для приготування розчину хлориду натрію	2	Реактори-змішувач фірми «Waldner» (Німеччина), оснащені перемішуючим пристроєм. Загальними об'ємами 16 та 250 л [72].
Р-12 Р-19	Стерилізатори	2	Стерилізатори фірми «Waldner» (Німеччина), оснащені перемішуючим пристроєм. Загальними об'ємами 16 та 250 л [72].
ФР-9	Ферментер (Інокулятор)	1	Біореактор фірми ZETA Group (Австрія), оснащений перемішуючим пристроєм, барботером та паровою сорочкою. Загальний об'єм - 30 л [79].
ФР-16	Ферментер (Посівний апарат)	1	Посівний апарат фірми ZETA Group (Австрія), оснащений перемішуючим пристроєм, барботером та паровою сорочкою. Загальний об'єм - 630 л [79].
Р-5	Ресивер	1	Ресивер серії РВ 230/10 фірми «УкрРесВер» , об'єм 230 л, робочий тиск 1МПа [76].

## Закінчення таблиці 6.1

P-13	Реактор-змішувач для приготування соєвого борошна	1	Реактор-змішувач фірми «Waldner» (Німеччина), оснащений перемішуючим пристроєм. Загальний об'єм 40 л [72].
P-28	Реактор-змішувач для приготування соєвого борошна	1	Реактор-змішувач фірми «Waldner» (Німеччина), оснащений перемішуючим пристроєм. Загальний об'єм 200 л [72].
P-22	Стерилізатор	1	Стерилізатори фірми «Waldner» (Німеччина), оснащені перемішуючим пристроєм. Загальними об'ємами 80 [72].
P-14	Стерилізатор	1	Стерилізатори фірми «Waldner» (Німеччина), оснащені перемішуючим пристроєм. Загальними об'ємами 280 [72].
H-11	Насос перистальтичний	1	Перистальтичний насос фірми РСМ серії «Delasco» (Франція), продуктивність 50 л/год [80].
H-18, H-21	Насоси відцентрові	2	Насос фірми «М.Е.С.-Consult» (Україна, Голандія). Швидкість потоку "5 рідини - 0,5-200 м /год. Тиск - 0-15 БАР [82].

## РОЗДІЛ 7. Опис технологічної схеми.

Креслення технологічної схеми біосинтезу пробіотика *Lactobacillus fermentum* продемонстровано в графічній частині даного курсового проєкту.

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

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

Атмосферне повітря забирають через повітрозабірник ПЗ-1 на висоті 10-12 м. Забір проводять на такій висоті від найвищої точки будівлі для уникнення потрапляння значної кількості мікроорганізмів та пилу.

#### **ДР 1.2. Груба очистка повітря**

Для звільнення повітря від пилу, вологи та інших грубих часток повітря подають на фільтр грубого очищення Ф-2 класу G4 із синтетичних волокон 100% поліестера.

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

Після цього повітря подають на компресор К-3, де проводять його стиснення до 0,25–0,45 МПа з метою подолання опору фільтрувальних матеріалів на наступних стадіях фільтрування, а також подолання гідравлічного опору під час диспергування у культуральній рідині.

#### **ДР 1.4. Охолодження повітря та зменшення надлишкової вологості**

Охолодження повітря проводять у теплообміннику-охолоджувачі Т-4 до 20°C. Далі видаляють вологу з повітря у ресивері Р-5, де вологість зріджується і виходить у вигляді конденсату.

#### **ДР 1.5. Нагрівання повітря**

Через можливість утворення конденсаційної пари на наступних стадіях необхідно підігріти повітря. Підігрів здійснюють в теплообміннику-нагрівачі Т-6. Температура має підвищитись до 30-32°C з врахуванням втрати тепла повітря при наступному його очищенні.

					НУХТ БТЕК 04.01.10 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 7. Опис технологічної схеми	Літ.	Арк.	Аркушів
Розроб.		Галецький М.В.					49	6
Перевір.		Стабніков В.П.						
Реценз.								
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.			Кафедра БТМ			

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

Повітря подають до головного фільтру тонкої очистки Ф-7 класу фільтрації F7. Ступінь очищення має становити до  $E = 95 \%$  (утримання часток розміром 1-3 мкм).

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

Повітря надходить на фільтри тонкої очистки повітря з гофрованого фільтрувального паперу на основі ультра та мікротонкого скловолокна. Ефективність очищення до 99,9995%. Фільтри Ф-19, Ф-27, Ф-36 встановлюються безпосередньо перед ферментаційним обладнанням. Стерильне повітря подають на стадії ТП 4.5, ТП 4.6, ТП 5.1.

## ***ДР 2. Приготування та стерилізація титрувальних агентів***

### *ДР 2.1. Приготування 6% розчину HCl*

До реактора Р-9 за допомогою дозатора рідин Д-8 надходить 0,65 л 6% розчину соляної кислоти, подають 3,34 л води питної, перемішують. Розчин кислоти не піддають стерилізації. Розчин надходить самопливом до ІН-20, ІН-28, ФР-37.

### *ДР 2.2. Приготування та стерилізація 6% розчину КОН*

На технічних вагах Д-10 зважують 0,24 г КОН та поміщають до реактора Р-11. В реактор подають 3,9 л води питної, перемішують. При цьому подають глуху пару в сорочку апарата. Стерилізацію проводять при  $131^{\circ}\text{C}$ , 0,15 МПа протягом 40 хв. Розчин надходить самопливом до ІН-20, ІН-28, ФР-37.

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

### *ДР 3.1.1. Приготування і стерилізація композиції А*

На технічних терезах зважують 2 г дріжджового екстракту, 5 г пептон, 1 г глюкози та 4 г м'ясного екстракту. Наважки поміщають у колбу об'ємом 1 л, додають 0,1 л дистильованої води, перемішують, закривають ватно-марлевим корком і стерилізують в автоклаві при  $112^{\circ}\text{C}$ , 0,05 Па, 30 хв.

### *ДР 3.1.2. Приготування і стерилізація композиції Б*

На технічних терезах зважують 0,01 г  $\text{C}_6\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_7$  та 0,25 г  $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$

Наважку поміщають у колбу об'ємом 1 л, додають 200 мл води питної, перемішують, закривають ватно-марлевим корком і стерилізують в автоклаві при :  $131^{\circ}\text{C}$ , 40 хв

*ДР 3.1.3. Приготування і стерилізація композиції В .*

На технічних терезах зважують 0.1 г  $K_2HPO_4$ . Наважку поміщають у колбу об'ємом 1 л, додають 100 мл води питної, перемішують, закривають ватно–марлевым корком і стерилізують в автоклаві при : 131°C ,0.15 Мпа,60 хвилин.

*ДР 3.1.4. Приготування і стерилізація композиції Г*

На технічних терезах зважують 0.1 г  $MgSO_4$  та 0.0025 г  $MnSO_4$ . Наважку поміщають у колбу об'ємом 1 л, додають 100 л води питної, перемішують, закривають ватно–марлевым корком і стерилізують в автоклаві при : 131 °С, 40 хв

***ДР 3.2. Приготування та стерилізація поживного середовища для інокулятора 10 л***

*ДР 3.2.1. Приготування і стерилізація композиції А*

На технічних терезах зважують 20 г дріжджового екстракту ,50 г пептон , 10 г глюкози та 40 г м'ясного екстракту. Наважки поміщають у колбу об'ємом 10 л, додають 1 л дистильованої води, перемішують, закривають ватно– марлевым корком і стерилізують в автоклаві при 112 °С,0.05 Па, 30 хв.

*ДР 3.2.2. Приготування і стерилізація композиції Б*

На технічних терезах зважують 0.1 г  $C_6H_{17}N_3O_7$  та 2.5 г  $C_2H_3NaO_2$

Наважку поміщають у колбу об'ємом 10 л, додають 2 л води питної, перемішують, закривають ватно–марлевым корком і стерилізують в автоклаві при : 131 °С, 40 хв

*ДР 3.2.3. Приготування і стерилізація композиції В .*

На технічних терезах зважують 1 г  $K_2HPO_4$ . Наважку поміщають у колбу об'ємом 10 л, додають 1 л води питної, перемішують, закривають ватно–марлевым корком і стерилізують в автоклаві при : 131°C ,0.15 Мпа,60 хвилин.

*ДР 3.2.4. Приготування і стерилізація композиції Г*

На технічних терезах зважують 1 г  $MgSO_4$  та 0.025 г  $MnSO_4$ . Наважку поміщають у колбу об'ємом 10 л, додають 1 л води питної, перемішують, закривають ватно–марлевым корком і стерилізують в автоклаві при : 131 °С, 40 хв

***ДР 3.3. Приготування та стерилізація поживного середовища для інокулятора 100 л***

*ДР 3.3.1. Приготування і стерилізація композиції А*

На технічних терезах зважують 200 г дріжджового екстракту ,500 г пептон , 100 г глюкози та 40 г м'ясного екстракту. Наважки поміщають у колбу об'ємом 200 л, додають 10 л дистильованої води, перемішують, закривають ватно– марлевим корком і стерилізують в автоклаві при 112 °С,0.05 Па, 30 хв.

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

На технічних терезах зважують 1 г  $C_6H_{17}N_3O_7$  та 25 г  $C_2H_3NaO_2$

Наважку поміщають у колбу об'ємом 200 л, додають 20 л води питної, перемішують, закривають ватно–марлевим корком і стерилізують в автоклаві при : 131 °С, 40 хв

#### *ДР 3.3.3. Приготування і стерилізація композиції В .*

На технічних терезах зважують 10 г  $K_2HPO_4$ . Наважку поміщають у колбу об'ємом 100 л, додають 10 л води питної, перемішують, закривають ватно–марлевим корком і стерилізують в автоклаві при : 131°С ,0.15 Мпа,60 хвилин.

#### *ДР 3.3.4. Приготування і стерилізація композиції Г*

На технічних терезах зважують 10 г  $MgSO_4$  та 0.25 г  $MnSO_4$ . Наважку поміщають у колбу об'ємом 100 л, додають 10 тл води питної, перемішують, закривають ватно–марлевим корком і стерилізують в автоклаві при : 131 °С, 40 хв

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

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

Колекційну культуру *Lactobacillus fermentum* TCUESC01 зберігають уліофілізованому стані при  $-80^{\circ}C$  у флаконах. Пересіви здійснюють кожні 2 -3.5 місяці. Всі роботи з колекційною культурою проводяться строго в асептичних умовах [6].

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

Колекційну культуру, що зберігалася у флаконах, розсівають методом виснажуючого штриха на МРС агар у чашках Петрі до ізольованих колоній та вирощують у термостаті при температурі  $36^{\circ}C$  упродовж 12 год. До ТП 2.3

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

Ізольовані колонії (від ТП 2.2) пересівають уколом в пробірки з МРС агаром (1 колонія для 1 пробірки). Відстань між колоніями має бути не менше 1 см. Час культивування – 12-15 год. Мікробіологічний контроль культури

(кожні 5-6 год) здійснюють мікроскопіюванням [6].

#### *ТП 4.4. Вирощування культури в термостаті*

Композиції А, Б, В, Г (від ДР 1.1.1, ДР 1.1.2, ДР 1.1.3 ДР 1.1.4) в асептичних умовах зливають у колбу об'ємом 2 л, перемішують і розливають по 500 мл у 4 стерильні колби об'ємом 1 л. У пробірку з робочою культурою *Lactobacillus fermentum* TCUESC01, вирощену у МРС агарі, вносять 5 мл фізіологічного розчину, суспендують клітини (змивають культуру), піпеткою відбирають одержану бактеріальну суспензію і вносять у колби з розлитим поживним середовищем. Для засіву однієї колби використовують бактеріальну суспензію, одержану з 1 пробірки.

Мікробіологічний контроль культури (кожні 5-6 год) здійснюють мікроскопіюванням. Після вирощування у термостаті упродовж 12-15 год культуральну рідину з колб переносять у стерильну засівну колбу об'ємом 1 л До ТП 2.5 [6].

#### *ТП 4.5 Вирощування інокуляту в посівному апараті*

В боксі в асептичних умовах у спеціальний балон для асептичної передачі зливають розчини (від ДР 3.2.1), (від ДР 3.2.2), та розчинм солей (композиція В від ДР 3.2.3) та (композиція Г від ДР 3.2.4) перемішують і отриманий розчин асептично через колектор передають в посівний апарат (ФР-17). Вмикають перемішуючий пристрій спочатку 40 об/хв збільшуючи до 100 об/хв, періодично виключаючи мішалку. Через засівну колбу вносять 1 л посівного матеріалу (від ТП 4.4).

#### *ТП 5. Біосинтез*

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

У попередньо простерилізований ферментер (ФР-28) об'ємом 1000 л в якому вже міститься готова композиція В (ДР 4.3.3) (надійшла за допомогою відцентрового насоса (перекачують за допомогою перестальтичних насосів), простерилізоване поживне середовище (від ДР 4.3.1 та ДР 4.3.2) (РЗ-18, РЗ-21 відповідно). Вмикаємо перемішуючий пристрій (40 об/хв). Через трубу перетискування перекачують з посівного апарату інокулят від ТП 2.5. Через трубу, яка розташована на відстані 15 см над поверхнею поживного середовища, подаємо стерильне аераційне повітря. Культивування проводять при тиску 0,01 МПа.

Упродовж процесу біосинтезу періодично (щогодини на 10 хв) вмикають перемішувальний пристрій (100 об/хв). Перевіряють кислотність середовища за допомогою рН-метра і нейтралізують розчином лугу (від ДР 4.1.2). Процес культивування зупиняють після досягнення концентрації лактобактерій на рівні  $6.1 \times 10^9$  КУО/см<sup>3</sup> та стабілізації рівня рН 6, що свідчить про закінчення росту та розмноження клітин. Під час культивування беруть пробу для мікробіологічного контролю на відсутність сторонньої мікробіоти .

## РОЗДІЛ 8. Контроль виробництва

### 8.1 Мікробіологічний контроль

Контроль за відсутністю чужорідних мікроорганізмів здійснюється:

1. Шляхом мікроскопії являється шляхом перегляду мазків, приготовлених з суспензії розчиненого препарату та фарбування за Грамом. Мазки повинні мати вигляд позитивних поліморфних паличок із можливою біфуркацією на 1-му або 2-х та закінчується обміном у вигляді скупчень або окремих клітин.

Мікробіологічний метод - посівом на м'ясний пептонний агар, м'ясний пептоновий агар з 5% глюкозою і агарове середовище Сабуро. Висіяти 0,5 мл культуральної рідини в пробірки (2 пробірки).

Інокулюм розподіляється по всій саме поверхні живильного середовища струшування пробірки. Посіви на МПА, агар середовище Сабуро інкубують при  $t = 37^{\circ}\text{C}$  (в горизонтальному положенні спочатку (2 дні), а далі необхідно у вертикальному положенні. Тільки через 48 годин, та навіть інколи 72 години та через 8 днів враховують результати посівів. Посіви на агарі середовища Сабуро інкубують  $t = (22 \pm 1)^{\circ}\text{C}$  протягом 8 днів [12].

Протягом зазначеного періоду та після інкубації посівів на поживних речовинах середовища МПА не повинні виявляти ріст чужорідних мікроорганізмів твердої агарової середовища Сабуро - грибковий ріст. Контроль повторюють двічі, якщо виявлено на посівах сторонні мікроорганізми. А при відсутності росту мікроорганізмів вже після повторного висіва вважається, що досліджувана культуральна рідина відповідає вимогам. Але у випадку росту чужорідних мікроорганізмів під час пересіву зразків, принаймні в одній пробірці, серія відсутня [18].

					НУХТ БТЕК 04.01.10 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 8. Контроль виробництва	Літ.	Арк.	Аркушів
Розроб.		Галецький М.В.					55	28
Перевір.		Стабніков В.П.						
Реценз.								
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.			Кафедра БТМ			

## 8.2. Концентрація біомаси

Для визначення концентрації біомаси *Lactobacillus fermentum* беруть пробу культуральної рідини 1 мл та вносять у пробірку з 9 мл стерильної води. Вміст пробірки перемішують та вимірюють його оптичну щільність за допомогою спектрофотометра. Кювети обираємо з довжиною оптичного шляху 100 мм. Для контролю в іншу кювету наливаємо стерильну воду. Прилад ULAB 102 вимірює довжину хвилі на 600 нм (рис. 5.1). Далі за допомогою калібрувального графіка розраховуємо біомасу бактерій [13]



Рис 5.1 спектрометр ULAB 102

1. **Оптична густина (OD):** Під час проходження світла через розчин клітин частина світла поглинається або розсіюється клітинами. Оптична густина вимірюється за допомогою спектрофотометра, який визначає, скільки світла проходить через зразок порівняно з чистим розчином (бланком).
2. **Спектрофотометр:** Прилад, який використовується для вимірювання оптичної густини, зазвичай працює на певній довжині хвилі, найчастіше 600

нм (OD600). Це пов'язано з тим, що багато мікроорганізмів, таких як бактерії, добре розсіюють світло на цій довжині хвилі.

## **Процедура вимірювання**

### **1. Підготовка зразка:**

- Культивуйте мікроорганізми у відповідному середовищі.
- Візьміть пробу культури і, якщо необхідно, розведіть її до відповідної концентрації.

### **2. Вимірювання OD:**

- Підготуйте бланк (зазвичай це стерильне середовище без клітин).
- Виміряйте OD бланка і запишіть значення.
- Виміряйте OD зразка з клітинами і запишіть значення.

### **3. Обчислення біомаси:**

- Відніміть OD бланка від OD зразка для отримання скоригованого значення OD.
- Використовуйте калібрувальну криву, якщо вона доступна, щоб перевести значення OD у концентрацію клітин (наприклад, в одиницях клітин на мілілітр або у масових одиницях).

## **Калібрувальна крива**

Для точного визначення біомаси часто створюють калібрувальну криву, яка встановлює залежність між OD і реальною концентрацією клітин:

1. Приготуйте серію розведень культури з відомою концентрацією клітин.
2. Виміряйте OD для кожного розведення.
3. Побудуйте графік залежності OD від концентрації клітин.
4. Використовуйте цей графік для перетворення значень OD експериментальних зразків у концентрацію клітин.

## **Недоліки**

- **Лінійність OD:** Метод працює найкраще в діапазоні OD 0.1-1.0. При вищих значеннях OD потрібні розведення зразка для уникнення помилок через нелінійність.
- **Тип клітин:** Різні типи клітин можуть мати різні оптичні властивості, тому калібрувальні криві потрібно створювати для кожного типу клітин окремо.

Цей метод є простим і швидким для оцінки біомаси у рідких культурах і широко використовується у біотехнологічних і мікробіологічних дослідженнях.

### **8.2.2. Концентрація цільового продукту**

Метод визначення живих клітин за допомогою методу Коха базується на виділенні та культивуванні мікроорганізмів із зразків, що підозрюються на наявність патогенів. Основною ідеєю є те, що живі клітини можуть бути вирощені на живильних середовищах, де вони формують колонії. Ось основні етапи цього методу:

#### **Основні етапи методу визначення живих клітин за допомогою методу Коха**

##### **1. Збір зразків:**

- Зразки беруть з місць, де ймовірно знаходяться патогени, таких як інфіковані тканини, кров, сеча, мокрота, або інші біологічні рідини.

##### **2. Підготовка та висів зразків:**

- Зразки наносять на живильні середовища, які підтримують ріст мікроорганізмів. Це можуть бути агарові пластини або рідкі середовища, залежно від типу досліджуваного мікроорганізму.

##### **3. Інкубація:**

- Пластини або рідкі середовища інкубують при оптимальній температурі та умовах для росту конкретного мікроорганізму. Зазвичай це 24-48 годин, але час може змінюватися в залежності від організму.

#### 4. Огляд та ідентифікація колоній:

- Після інкубації колонії, що вирости, оглядають під мікроскопом. Кожна колонія походить від однієї живої клітини, яка розмножувалася під час інкубації.
- Для ідентифікації використовують морфологічні ознаки колоній та додаткові біохімічні тести.

#### Переваги та обмеження методу

##### Переваги

- **Пряме підтвердження життєздатності:** Оскільки колонії утворюються тільки від живих клітин, цей метод дає пряму інформацію про кількість живих мікроорганізмів у зразку.
- **Ідентифікація патогенів:** Можливість ідентифікації конкретних видів мікроорганізмів за їх морфологічними та біохімічними характеристиками.

##### Обмеження

- **Часовий фактор:** Потрібен час для інкубації (іноді кілька днів), що може бути критичним в екстрених ситуаціях.
- **Неможливість культивування деяких мікроорганізмів:** Деякі патогени не можуть бути вирощені на стандартних живильних середовищах.
- **Складність у диференціації:** Деякі види бактерій можуть мати подібні морфологічні ознаки колоній, що ускладнює ідентифікацію.

##### Сучасні доповнення

З розвитком мікробіології та молекулярної біології метод Коха доповнюється сучасними техніками, такими як:

- **Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР):** Використовується для швидкого виявлення та ідентифікації мікроорганізмів на основі їх ДНК.
- **Методи секвенування:** Дозволяють отримувати генетичну інформацію про мікроорганізми, що значно полегшує їх ідентифікацію та вивчення.

- **Методи візуалізації:** Використання флуоресцентних мікроскопів для виявлення та підрахунку живих клітин у зразках.

Ці доповнення дозволяють покращити точність та швидкість діагностики інфекційних захворювань, зберігаючи при цьому основні принципи, закладені Робертом Кохом.

### **8.2.3. Концентрація джерела Карбону і Нітрогену**

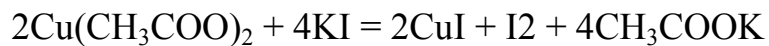
Глюкозу можливо визначити за допомогою глюкозооксидазним методом. Фермент глюкозооксидаза реагує з глюкозою, водою та киснем з утворенням глюконової кислоти та перекису водню. Потім перекис водню можна використовувати для окислення хромогену або виміряти споживання кисню, щоб оцінити кількість присутньої глюкози. Глюкозооксидаза є специфічною для  $\beta$ -D-глюкози, тому перехресна реакція з іншими цукрами не є проблемою. У водному розчині приблизно 66% D-глюкози знаходиться в  $\beta$ -стані, а 34% існує у вигляді  $\alpha$ -D-глюкоза. Швидкість взаємоперетворення залежить від рН і температури. Деякі методи додають до реагентів глюкомутаростазу, щоб прискорити перетворення на бета-аномеру, але це, здається, не змінює клінічні результати. Вимірювання утвореного пероксиду водню не таке специфічне, як перша реакція глюкозооксидази.

Принцип методу визначення глюкози заснований на окисненні D-глюкози глюкозооксидазою до глюкуронової кислоти з утворення перекису водню, який під дією пероксидази реагує з 4-аміноантіпірином і фенолом з утворенням сполуки червоного кольору. Інтенсивність забарвлення пропорційна до концентрації глюкози в досліджуваному зразку і вимірюється фотоколориметрично за довжини хвилі 540 нм. До 0,01 мл фільтрату культуральної рідини додають 1 мл робочого розчину, витримують 30 хв за кімнатної температури. Вимірювання оптичної густини розчинів проводять за довжини хвилі 540 нм проти незабарвленої проби

Визначити дріжджовий екстракт а саме амінокислоти які знаходяться в ньому можна за допомогою мідного способу. Визначення амінного азоту мідним способом ґрунтується на здатності амінокислот і різних пептидів утворювати комплексні

розчинні сполуки з міддю, яку потім визначають йодометрично. До визначеної кількості досліджуваного розчину, який містить сумішамінокислот і пептидів, приливають при слаболужній реакції надлишок суспензії фосфорнокислої міді у боратному буфері, в результаті чого після збовтування у розчин переходять мідні солі більшості амінокислот. Потім надлишок фосфату міді відфільтровують і до прозорого розчину додають

оцтову кислоту і йодистий калій. При цьому відбувається реакція:



Йод, що виділився відтитрують слабким розчином тіосульфату. Кожен мілілітр 0,01 н.  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  відповідає 0,28 мг амінного азоту.

### 8.3 Методи ідентифікації пробіотику

Ідентифікація *Lactobacillus fermentum* включає кілька методів, які можуть використовуватись для ідентифікації пробіотику. Ось основні методи, що застосовуються для ідентифікації цього виду пробіотиків:

#### *Фенотипічні методи*

-Морфологічні характеристики. Спостереження за клітинами під мікроскопом, щоб оцінити форму, розмір і розташування клітин. *L. fermentum* зазвичай має форму паличок.

-Біохімічні тести. Використання тест-систем, таких як API 50 CHL (біохімічна ідентифікація), що аналізують здатність бактерій ферментувати різні цукри. Виявлення характерних метаболічних продуктів, таких як молочна кислота.

-Ферментативна активність. Визначення активності ферментів, специфічних для *L. fermentum*, наприклад,  $\beta$ -глюкуронідази.

#### *Генотипічні методи*

- ПЛР (Полімеразна ланцюгова реакція) .Використання видоспецифічних праймерів для ампліфікації генів, характерних для *L. fermentum*. Наприклад, гени, що кодують 16S рРНК.
- Секвенування 16S рРНК.Аналіз послідовності гену 16S рРНК для точного визначення виду. Це один з найнадійніших методів для ідентифікації бактерій на видовому рівні.
- Мультиплексна ПЛР.Використання кількох пар праймерів для одночасної ампліфікації різних генів, що дозволяє ідентифікувати *L. fermentum* серед інших споріднених видів.

#### *Молекулярно-біологічні методи*

- DGGE (денатуруюча градієтна гель-електрофорез).Розділення ДНК-фрагментів на основі їх здатності до денатурації для аналізу генетичної різноманітності в зразку.
- Метагеноміка.Аналіз всього генетичного матеріалу в зразку для ідентифікації *L. fermentum* в складних мікробних спільнотах.

#### *Мас-спектрометрія*

MALDI-TOF (Матриця-асистована лазерна десорбція/іонізація з часопрелітним аналізатором).Аналіз білкових профілів для ідентифікації виду бактерій. Цей метод швидкий і надійний для ідентифікації різних видів *Lactobacillus*.

#### *Культивування і мікробіологічні методи*

Вибіркові середовища.Використання специфічних живильних середовищ, які підтримують ріст *L. fermentum*, наприклад, MRS-агар (декстроза, м'ясний екстракт, пептон та інші компоненти).

Колонійні морфології.Спостереження за характерними ознаками колоній, такими як форма, колір і розмір, що можуть бути специфічними для *L. fermentum*.

#### *Комбіновані методи*

Часто використовуються комбінації фенотипічних і генотипічних методів для підвищення точності ідентифікації. Наприклад, первинне культивування на вибіркових середовищах з подальшим генетичним аналізом або MALDI-TOF аналізом.

Кожен з цих методів має свої переваги та обмеження, тому для найбільш точної ідентифікації *L. fermentum* часто використовують комбінацію декількох методів.

#### **8.4 Методи визначення показників якості пробіотику**

Визначення показників якості пробіотиків є важливим етапом для забезпечення їх ефективності та безпеки. Ось основні показники якості пробіотиків та методи їх визначення:

##### **1. Життєздатність мікроорганізмів**

**Показник:** Кількість життєздатних пробіотичних бактерій (колонієутворюючих одиниць, КУО) на одиницю об'єму або маси продукту.

**Методи визначення:**

**Платковий метод:** Посів пробіотику на вибіркові середовища (наприклад, MRS-агар) з подальшим підрахунком колоній.

**Автоматизовані системи підрахунку колоній:** Використання спеціалізованих пристроїв для підрахунку колоній на чашках Петрі.

##### **2. Ідентифікація видів та штамів**

**Показник:** Відповідність заявлених видів та штамів пробіотичних мікроорганізмів.

**Методи визначення:**

**Генотипічні методи:** ПЛР, секвенування 16S рРНК, мультиплексна ПЛР.

**Мас-спектрометрія:** MALDI-TOF.

##### **3. Органолептичні властивості**

**Показник:** Зовнішній вигляд, смак, запах і консистенція продукту.

#### **Методи визначення:**

- **Сенсорний аналіз:** Оцінка продукту дегустаційною комісією.

#### **4. Вміст активних інгредієнтів (для комбінованих продуктів)**

**Показник:** Кількість активних інгредієнтів, таких як інші штами пробіотику

#### **Методи визначення:**

**Хімічний аналіз:** Визначення вмісту активних інгредієнтів за допомогою методів ВЕРХ (високоєфективна рідинна хроматографія), спектрофотометрії тощо.

#### **5. Контроль на відсутність сторонніх мікроорганізмів проводять такими методами:**

**Метод мікроскопії:** переглядають мазки, приготовлені із суспензії розчиненого препарату та забарвлені за Грамом. В мазках повинні бути присутні грамнегативні палички із закругленими кінцями.

**Мікробіологічний метод:** шляхом посіву на м'ясопептонний агар та агаризоване середовище Сабуро. Вміст чотирьох флаконів розводять у 9 г/л розчині натрію хлориду із розрахунку 1 мл на одну дозу препарату та залишають на годину для регідратації біомаси. Отриману суспензію висівають по 0,5 мл у пробірки (по дві пробірки з поживним середовищем). Співвідношення посівної дози до об'єму поживного середовища має становити 1:10 або 1:20.

Посівний матеріал розподіляють по всій поверхні поживного середовища, погойдуючи пробірку. Посіви на МПА та агаризованому середовищі Сабуро інкубують при температурі 37°C спочатку в горизонтальному положенні (протягом двох діб), а потім у вертикальному положенні. Результати посівів враховують через 48 годин, 72 години та через 8 діб. Посіви на агаризованому середовищі Сабуро інкубують при температурі (22 ± 1)°C протягом 8 діб.

Після інкубації посівів протягом зазначених термінів на поживних середовищах МПА не повинно бути росту сторонніх мікроорганізмів, а на твердому

агаризованому середовищі Сабуро – росту грибів. У випадку виявлення сторонніх мікроорганізмів контроль повторюють на подвоєній кількості зразків препарату. Якщо при повторному висіві ріст мікроорганізмів відсутній, досліджуваний препарат вважають таким, що відповідає вимогам. Якщо ж при повторному висіві зразків у хоча б одній пробірці виявлено ріст сторонніх мікроорганізмів, серію препарату бракують.

Контроль на відсутність сторонніх мікроорганізмів проводять такими методами:

**Метод мікроскопії:** переглядають мазки, приготовлені із суспензії розчиненого препарату та забарвлені за Грамом. В мазках повинні бути присутні грамнегативні палички із закругленими кінцями.

**Мікробіологічний метод:** шляхом посіву на м'ясопептонний агар та агаризоване середовище Сабуро. Вміст чотирьох флаконів розводять у 9 г/л розчині натрію хлориду із розрахунку 1 мл на одну дозу препарату та залишають на годину для регідратації біомаси. Отриману суспензію висівають по 0,5 мл у пробірки (по дві пробірки з поживним середовищем). Співвідношення посівної дози до об'єму поживного середовища має становити 1:10 або 1:20.

Посівний матеріал розподіляють по всій поверхні поживного середовища, погойдуючи пробірку. Посіви на МПА та агаризованому середовищі Сабуро інкубують при температурі 37°C спочатку в горизонтальному положенні (протягом двох діб), а потім у вертикальному положенні. Результати посівів враховують через 48 годин, 72 години та через 8 діб. Посіви на агаризованому середовищі Сабуро інкубують при температурі  $(22 \pm 1)^\circ\text{C}$  протягом 8 діб.

Після інкубації посівів протягом зазначених термінів на поживних середовищах МПА не повинно бути росту сторонніх мікроорганізмів, а на твердому агаризованому середовищі Сабуро – росту грибів. У випадку виявлення сторонніх мікроорганізмів контроль повторюють на подвоєній кількості зразків препарату. Якщо при повторному висіві ріст мікроорганізмів відсутній, досліджуваний препарат вважають таким, що відповідає вимогам. Якщо ж при повторному висіві

зразків у хоча б одній пробірці виявлено ріст сторонніх мікроорганізмів, серію препарату бракують.

Постадійний контроль виробництва пробіотику *Lactobacillus fermentum* наведено у таблиці 8.1.

Таблиця 8.1

**Карта постадійного контролю виробництва пробіотику**

<b>Номер контрольної точки та назва стадії</b>	<b>Об'єкт контролю і показник, що визначається</b>	<b>Засоби та методи контролю</b>	<b>Періодичність перевірки та порядок відбору проб</b>	<b>Нормативна характеристика показника, що визначається</b>
Кт 1.1 Забір атмосферного повітря	Висота забору повітря	Висота труби забору	Протягом всього циклу виробництва	H=10-12 м
Кт 1.2 Груба очистка повітря	Очищене повітря, ступінь очищення повітря на виході з фільтра, перепад тисків	Манометр, перевірка ступеню очищення згідно паспорту фільтра	Після очистки у фільтрі грубого очищення	E=80%, тиск згідно паспорту
Кт 1.3 Компресування повітря	Стиснене повітря, тиск	Манометр технічний	Повітря після компресування	P=0,35-0,5 МПа
Кт 1.4 Охолодження повітря та зменшення надлишкової вологості	Охолоджене повітря, температура, вологість	Термометр технічний, психрометричний метод	Після охолодження повітря і видалення вологи	t=20°C, W=60%
Кт 1.5 Нагрівання повітря	Підігріте повітря, температура	Термометр технічний	Після нагріву повітря	t=30-32°C
Кт 1.6 Очищення повітря в головному фільтрі	Очищене повітря, перепади тисків, ступінь очищення повітря на виході з фільтра	Манометр, перевірка ступеню очищення згідно паспорту фільтра	Після очистки у фільтрі головного очищення	E=95%, тиск згідно паспорту

Продовження таблиці 8.1

Кт 1.7 Очищення повітря на індивідуальному фільтрі	Очищене повітря, ступінь очищення повітря	Перевірка ступеню очищення повітря згідно паспорту фільтра	Під час очищення повітря на індивідуальних фільтрах	E=99,9995 %
Кх 2.1 Приготування 6% розчину HCl	Концентрація HCl	Хімічний метод	Після приготування розчину	C=6%
Кх 2.2 Приготування та стерилізація 6% розчину NaOH	Концентрація NaOH, температура, тиск, час, стерильність	Хімічний метод, манометр технічний, термометр, таймер, мікробіологічний контроль	Концентрацію визначають після приготування розчину. Тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний метод контролю	C=6%, P=0,15 МПа, t=131°C, τ=40 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.1.1 Приготування та стерилізація композиції А для вирощування інокуляту в колбах на качалках	Композиція А, температура, тиск, час, стерильність	Термометр, таймер, манометр технічний мікробіологічний контроль	Температура та тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний метод контролю	t=112°C, P=0,05 МПа, τ=30 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.1.2 Приготування та стерилізація композиції Б для вирощування інокуляту в колбах на качалках	Композиція Б, температура, тиск, час, стерильність	Термометр, таймер, манометр технічний мікробіологічний контроль	Температура та тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний метод контролю	t=120°C, P=0,075 МПа, τ=30 хв, відсутність мікробіоти

Продовження таблиці 8.1

Кт, Км 3.1.3 Приготування та стерилізація композиції В для вирощування інокуляту в колбах на качалках	Композиція В, температура, тиск, час, стерильність	Термометр, таймер, манометр технічний мікробіологічний контроль	Температура та тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний метод контролю	t=131°C, P=0,15 МПа, τ=60 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.1.4 Приготування та стерилізація композиції Г для вирощування інокуляту в колбах на качалках	Композиція Г, температура, тиск, час, стерильність	Термометр, таймер, манометр технічний мікробіологічний контроль	Температура та тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний метод контролю	t=131°C, P=0,15 МПа, τ=60 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.2.1 Приготування та стерилізація композиції А для інокулятора 5 л	Композиція А, температура, тиск, час, стерильність	Термометр, таймер, манометр технічний мікробіологічний контроль	Температура та тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний метод контролю	t=112°C, P=0,05 МПа, τ=30 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.2.2 Приготування та стерилізація композиції Б для інокулятора 5 л	Композиція Б, температура, тиск, час, стерильність	Термометр, таймер, манометр технічний мікробіологічний контроль	Температура та тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний метод контролю	t=120°C, P=0,075 МПа, τ=30 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.2.3 Приготування та стерилізація композиції В для інокулятора 5 л	Композиція В, температура, тиск, час, стерильність	Термометр, таймер, манометр технічний мікробіологічний контроль	Температура та тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний метод контролю	t=131°C, P=0,15 МПа, τ=60 хв, відсутність мікробіоти

Продовження таблиці 8.1

Кт, Км 3.2.3 Приготування та стерилізація композиції Г для інокулятора 5 л	Композиція Г, температура, тиск, час, стерильність	Термометр, таймер, манометр технічний мікробіологічний контроль	Температура та тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний метод контролю	t=131°C, P=0,15 МПа, τ=60 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.3.1 Приготування та стерилізація композиції А для інокулятора 50 л	Композиція А, температура, тиск, час, стерильність	Термометр, таймер, манометр технічний мікробіологічний контроль	Температура та тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний метод контролю	t=112°C, P=0,05 МПа, τ=30 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.3.2 Приготування та стерилізація композиції Б для інокулятора 50 л	Композиція Б, температура, тиск, час, стерильність	Термометр, таймер, манометр технічний мікробіологічний контроль	Температура та тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний метод контролю	t=120°C, P=0,075 МПа, τ=30 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.3.3 Приготування та стерилізація композиції В для інокулятора 50 л	Композиція В, температура, тиск, час, стерильність	Термометр, таймер, манометр технічний мікробіологічний контроль	Температура та тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний метод контролю	t=131°C, P=0,15 МПа, τ=60 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.3.4 Приготування та стерилізація композиції Г для інокулятора 50 л	Композиція Г, температура, тиск, час, стерильність	Термометр, таймер, манометр технічний мікробіологічний контроль	Температура та тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний метод контролю	t=131°C, P=0,15 МПа, τ=60 хв, відсутність мікробіоти

Продовження таблиці 8.1

Кт, Км 3.4.1 Приготування та стерилізація композиції А для ферментера 0.5 м <sup>3</sup>	Композиція А, температура, тиск, час, стерильність	Термометр, таймер, манометр технічний мікробіологічний контроль	Температура та тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний метод контролю	t=112°C, P=0,05 МПа, τ=30 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.4.2 Приготування та стерилізація композиції Б для ферментера 0.5 м <sup>3</sup>	Композиція Б, температура, тиск, час, стерильність	Термометр, таймер, манометр технічний мікробіологічний контроль	Температура та тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний метод контролю	t=120°C, P=0,075 МПа, τ=30 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.4.3 Приготування та стерилізація композиції В для ферментера 0.5 м <sup>3</sup>	Композиція В, температура, тиск, час, стерильність	Термометр, таймер, манометр технічний мікробіологічний контроль	Температура та тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний метод контролю	t=131°C, P=0,15 МПа, τ=60 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 3.4.4 Приготування та стерилізація композиції Г для інокулятора 0.5 м <sup>3</sup>	Композиція Г, температура, тиск, час, стерильність	Термометр, таймер, манометр технічний мікробіологічний контроль	Температура та тиск визначається безперервно під час стерилізації, мікробіологічний метод контролю	t=131°C, P=0,15 МПа, τ=60 хв, відсутність мікробіоти
Кт, Км 4.1 Підтримання колекційної культури	Колекційна культура, температура, мікробіологічна чистота культури	Холодильник	Мікробіологічний контроль	t=4°C, відсутність сторонньої № Закінчення табл. 5.1
Кт, Км 4.2 Одержання робочої культури на агаризованому середовищі	Пересіяна культура, чашки Петрі з МПА, температура, тривалість вирощування, мікробіологічна чистота культури	Термостат, мікроскоп, мікробіологічний контроль	Мікробіологічний контроль після вирощування культури	t=30°C, τ=76 год, відсутність сторонньої мікробіоти

Продовження таблиці 8.1

Кт, Км 4.3 Вирощування культури на агаризованому середовищі	Пересіяна культура, пробірки з МПА, температура, тривалість вирощування, мікробіологічна чистота культури	Термостат, мікроскоп, мікробіологічний контроль	Мікробіологічний контроль після вирощування культури	t=30°C, τ=76 год, відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Км 4.4 Вирощування посівного матеріалу в колбах на качалках	Посівний матеріал, тривалість вирощування, температура, швидкість перемішування, мікробіологічна чистота культури	Термометр технічний, таймер, тахометр, мікробіологічний контроль	Після вирощування інокуляту в колбах на качалках	t=30°C, τ=76 год, ω=150 об/хв, відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Кх, Км 4.5 Вирощування в інокуляторі 1 л	Посівний матеріал, тривалість культивування, температура, рН, мікробіологічна чистота культури	Термометр технічний, таймер, рН-датчик, тахометр, мікробіологічний контроль	Під час вирощування інокуляту і в кінці культивування	t=30°C, τ=76 год, ω=150 об/хв, рН=6,5, відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Кх, Км 4.6 Вирощування в інокуляторі 10 л	Посівний матеріал, тривалість культивування, температура, рН, мікробіологічна чистота культури	Термометр технічний, таймер, рН-датчик, тахометр, мікробіологічний контроль	Під час вирощування інокуляту і в кінці культивування	t=30°C, τ=76 год, ω=150 об/хв, рН=6,5, відсутність сторонньої мікробіоти
Кт, Кх, Км 4.7 Вирощування в інокуляторі 100 л	Посівний матеріал, тривалість культивування, температура, рН, мікробіологічна чистота культури	Термометр технічний, таймер, рН-датчик, тахометр, мікробіологічний контроль	Під час вирощування інокуляту і в кінці культивування	t=30°C, τ=76 год, ω=150 об/хв, рН=6,5, відсутність сторонньої мікробіоти

*Закінчення таблиці 8.1*

Кт, Кх, Км 5.1 Виробниче культивування	Культуральна рідина, температура, рН, тривалість культивування, концентрація біомаси, мікробіологічна чистота	Термометр технічний, годинник, рН- датчик, тахометр, хроматограф, мікробіологічний контроль	Мікробіологічний контроль проводять кожні 8 годин, концентрація біомаси визначається після закінчення процесу культивування	$t=30^{\circ}\text{C}$ , $\tau=144$ год, $\omega=150$ об/хв, $\text{pH}=6,5$ , $C_k = 6$ г/л, відсутність сторонньої мікробіоти
--	---	---	--	---

## РОЗДІЛ 9 Охорона довкілля

### Системи знешкодження рідких відходів

За даними виробництва пробіотиків США виробляє приблизно 122 тони пробіотиків на рік звідси впливає що водовідведення стічних продукції біотехнологічних та фармацевтичних виробництв буде:

$$122 \text{ тони} * 5000 = 610\,000 \text{ м}^3$$

Визначення середніх витрат стічних вод від промислових підприємств  
Середні за зміну витрати виробничих стічних вод, м<sup>3</sup>/добу, буде:

$$Q = q * n$$

$$Q = 669 * 5 = 3\,345 \text{ м}^3 / \text{добу}$$

Середні за зміну витрати побутових стічних вод, що надходять від підприємства, м<sup>3</sup>/зміну, обчислюють за формулою:

$$Q = q * N$$

$$Q = 0,045 * (24 * 2/8) = 0,27 \text{ м}^3 / \text{зміну}$$

Загальна витрата атмосферних стічних вод  $Q_a$  за рік становить 1500 – 2000 м<sup>3</sup> з 1 га

Загальні витрати стічних вод, що утворюються на підприємстві, обраховують за формулою:

$$Q_{\text{заг}} = Q_1 + Q_2 + Q_3$$

$$Q_{\text{заг}} = 3\,345 + 0,27 + 2000 = 5\,345,27 \text{ м}^3 / \text{зміну}$$

Для вирішення екологічних проблем існуючої системи очищення стічних вод на підприємстві варто провести екологічну модернізацію. Перш кроком є

					НУХТ БТЕК 04.01.10 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 9 Охорона довкілля	Літ.	Арк.	Аркушів
Розроб.		Галецький М.В.						
Перевір.		Стабніков В.П.					72	17
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

проведення детального аналізу існуючої системи очищення стічних вод. Це включає оцінку технічного стану обладнання, продуктивності, ефективності очищення та відповідність законодавчим нормам щодо скидів. Після аналізу можна буде визначити потреби у модернізації системи очищення.

Біологічне очищення води вважається найбільш екологічно безпечним серед усіх сучасних методів знешкодження промислових і побутових стічних вод. Цей процес ґрунтується на природних механізмах, основним з яких є здатність гетеротрофних мікроорганізмів використовувати органічні та деякі неорганічні сполуки, що містяться у стічних водах, для отримання енергії та росту. Ці мікроорганізми частково руйнують забруднення, перетворюючи їх на безшкідливі сполуки, та частково використовують для свого власного росту та розвитку

Першим етапом очищення є механічне очищення. Механічний спосіб фільтруючі матеріали, що дозволяє видалити великі тверді частки. Сітка, в свою чергу, використовується для уловлення менших твердих часток, які можуть бути присутні в стічних водах. Осадження дозволяє відділити важкі тверді частки, які осідають на дно спеціальних резервуарів. Механічний спосіб очищення є ефективним у видаленні різноманітних твердих забруднень, включаючи піски, шлаки та інші частки, що можуть бути присутні у стічних водах. Крім того, механічний метод не вимагає використання хімічних реагентів, що робить його більш екологічно чистим і безпечним для навколишнього середовища.

Після цього застосовується коагуляція та флокуляція. Цей процес полягає у додаванні коагулянтів, які сприяють згортанню малих часток забруднень в більші флоки. Після цього відбувається флокуляція

На відміну від інших методів, біологічне очищення води використовує природні механізми, такі як швидке утворення колоній мікроорганізмів, що сприяє ефективному відділенню їх від очищеної води. Ця технологія також ефективна в очищенні води від органічних та неорганічних забруднень, зменшуючи енерговитрати та обсяг утвореного осаду.

Нова технологія, яка використовує багатоступеневе анаеробно-аеробне очищення стічних вод з використанням іммобілізованих мікроорганізмів, має значні переваги, такі як підвищена ефективність очищення, зменшення енерговитрат та зменшення обсягу утвореного осаду.

Для того, щоб завод раціонально використовував схему водовідведення необхідно ознайомитись з алгоритмом вибору схем та здійснити оцінки можливості повторного використання даних стічних вод виробництва.

Для покращення стану стічних вод перед скиданням в каналізацію потрібно вилучити всі завислі компоненти у відстійнику, далі подавати повітря до аеротенка де відбувається подальше очищення води.

Потім воду направити до вторинного відстійника, щоб відокремити активний мул від стоків. Після повного очищення можна таку воду скидати до каналізації.

Різні типи біологічних пристроїв, такі як біофільтри, біологічні ставки і аеротенки, використовуються для очищення стічних вод. Найпоширенішим традиційним методом є обробка стічних вод активним мулом в аеротенках, але існують і інші ефективні методи, які застосовуються в залежності від конкретних умов.

Контроль за якістю води проводиться на всіх етапах очищення, включаючи аналіз якісного та кількісного складу забруднень, а також вмісту органічних речовин. Цей контроль дозволяє забезпечити ефективність роботи очисних споруд та захист навколишнього середовища.

Етапи очислення аеротоніку :

-Попереднє очищення: Сирова стічна вода попередньо проходить через механічне очищення для видалення крупних твердих частинок, сміття та піску. Це може включати грохочення, фільтрацію або інші методи.

-Аерація: Після попереднього очищення стічна вода надходить до аеротенку, де починається процес аерації. Це означає нагнітання повітря або кисню в стічну воду за допомогою спеціальних аераційних систем. Це

стимулює діяльність аеробних мікроорганізмів, які розкладають органічні забруднення.

-Біологічне очищення: У процесі аерації мікроорганізми, такі як бактерії та гриби, активно розкладають органічні речовини, що містяться у стічній воді. Цей процес може займати кілька годин або навіть днів, залежно від складності забруднення та розмірів очисних споруд.

-Відстійник: Після біологічного очищення очищена вода направляється до відстійника, де відбувається відокремлення осаду від рідини. Це дозволяє осаду осідати на дно, а чистій воді виходити з системи.

-Обробка осаду: Осад, який осідає відстійнику, може бути відправлений на подальшу обробку, таку як утилізація або використання як добриво. Також можуть бути вжиті заходи для уникнення надмірної накопичення осаду в системі.

### ***Системи знешкодження газоподібних відходів***

Біологічне очищення газу. Під час біологічного очищення газу мікроорганізми окислюють органічні сполуки до вуглекислого газу та води у вологому та насиченому киснем середовищі. Окислення сірчанних або азотовмісних сполук і хлорованих органічних сполук також утворює неорганічні кислоти. Якщо нерозкладані сполуки відсутні, ефективність контролю понад 90% може бути досягнута за розумних об'ємів фільтрів і низьких інвестиційних та експлуатаційних витрат. Запахи часто повністю видаляються. Перевагами біологічного очищення газу є низькі робочі температури та можливість обробки газових потоків з низьким вмістом органіки. Завдяки низьким експлуатаційним витратам біофільтрація може мати значні переваги перед іншими технологіями забруднення повітря, коли відпрацьовані гази містять низькі концентрації сполук, які легко біологічно розкладаються та розчиняються у воді. Біообробка не рекомендується для газів, що містять органічні сполуки сірки. Важливо, щоб пил, масло та жир були видалені з потоку відпрацьованих газів перед тим, як вони потраплять у зону біологічної обробки

Кріогенне (низькотемпературне) відділення  $\text{CO}_2$ . Принципи низькотемпературної або кріогенної очистки газу засновані на різниці температур кипіння компонентів, що входять до складу. Основний газовий потік охолоджується в одно- або багатоступеневій послідовності охолодження нижче певної кріогенної температури відповідно до робочого тиску. Існує два підходи до використання кріогенного розділення, які залежать від температури кипіння компонентів, а саме: зниження температури для зрідження бажаного компонента та встановлення температури, щоб легший компонент існував у газовій фазі.

Для виділення водню з синтез-газу робоча температура зазвичай становить менше  $-150^\circ\text{C}$ , що здійснюється за допомогою технології холодного боксу. Усі складові компоненти конденсуються при вищій температурі, тоді як водень перебуває у вигляді газу. Для прямого виділення  $\text{CO}_2$  із синтез-газу газова суміш охолоджується нижче температури кипіння  $\text{CO}_2$  при заданому тиску, і  $\text{CO}_2$  відокремлюється від молекул водню. Процеси низькотемпературного розділення можна використовувати для захоплення майже всієї кількості  $\text{CO}_2$  із синтез-газу або біогазу.

Однак для виділення  $\text{CO}_2$  з біогазу за допомогою низькотемпературної технології його зазвичай поєднують із процесом кріогенної дистиляції. Крім того, низькотемпературне очищення зазвичай не використовується як основний метод розділення, але воно використовується для підвищення ефективності. На рис. 1 показано схематичне зображення процесу кріогенного відділення  $\text{CO}_2$ .

Кріогенне фракціонування в даний час підходить для відділення  $\text{CO}_2$  від газового потоку з високими концентраціями  $\text{CO}_2$ . Існують десятки варіантів конфігурації процесу та схем проектування для кріогенного розділення. Загалом, першим кроком може бути сушіння, яке є необхідним, щоб уникнути утворення гідратів, особливо у випадку підвищення якості біогазу. Для цієї мети можуть підійти такі промислові ексікатори, як силікагелі та молекулярні сита. Потім газовий потік стискається за допомогою багатоступінчастого компресора з проміжним охолодженням. Після цього він охолоджується до

бажаної низької температури, яка досягається або дроселем Джоуля-Томсона та технологією розширення, або механізмом охолодження в технологічних теплообмінниках. Потім  $\text{CO}_2$  конденсується з потоку газу, вільного від  $\text{CO}_2$ , у сепараторі [11]

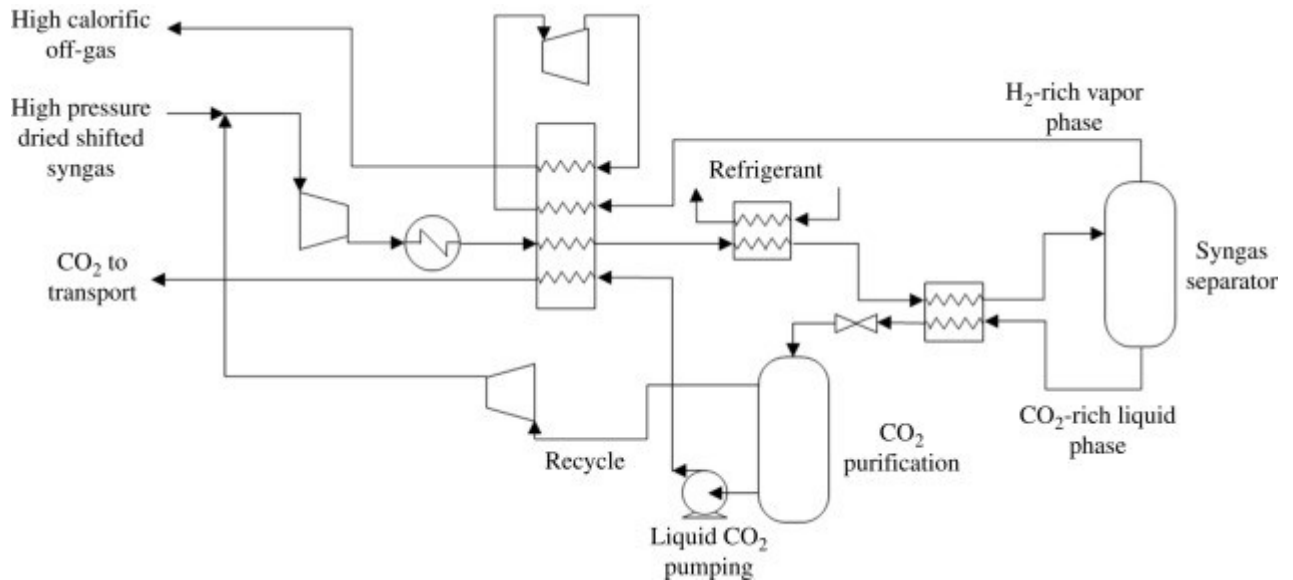


Рис 9.1. Схематичне зображення процесу криогенного відділення  $\text{CO}_2$

### ***Система знешкодження та утилізації твердих відходів***

Перш за все що впливає при виробництві пробіотиків як відходи це біомаса, найкращий спосіб для її деактивації підійде теплова обробка.

Теплова інактивація мікроорганізмів - це процес знищення мікроорганізмів, таких як бактерії, віруси і грибки, за допомогою тепла. Цей процес базується на впливі підвищених температур на клітинні структури мікроорганізмів, що призводить до їхньої деструкції або нейтралізації.

Основні принципи теплової інактивації мікроорганізмів включають:

**Температура:** Для ефективною інактивації мікроорганізмів необхідно досягти певної температури, яка залежить від виду мікроорганізмів і їхньої теплостійкості. Наприклад, бактерії можуть бути знищені при температурі понад  $60-70^\circ\text{C}$ , тоді як віруси можуть потребувати більш високих температур для повного знищення.

**Час:** Час, необхідний для теплової інактивації мікроорганізмів, також залежить від їхньої теплостійкості і температури обробки. Чим вища температура, тим менше часу потрібно для знищення мікроорганізмів.

**Вологість:** Наявність вологи може підвищити ефективність теплової інактивації, оскільки волога передає тепло краще, ніж повітря

Переробка біомаси на мінеральне добриво є важливим процесом у сільському господарстві, що дозволяє перетворити органічні відходи у корисний продукт для живлення рослин. Це екологічно безпечний метод, який знижує кількість відходів та підвищує родючість ґрунтів. Ось як зазвичай відбувається цей процес:

### **Етапи переробки біомаси на мінеральне добриво**

#### **Збір та сортування біомаси:**

Біомаса може включати сільськогосподарські відходи (солома, листя, гній), харчові відходи, деревні відходи та інші органічні матеріали.

Відходи сортують, видаляючи неорганічні матеріали та забруднення.

#### **Попередня обробка:**

**Подрібнення:** Великі шматки біомаси подрібнюють для полегшення подальшої обробки.

**Дегідратація:** У разі високої вологості, біомасу сушать для зменшення вмісту води.

#### **Компостування:**

Біомасу складають у компостні купи або спеціальні компостери, де вона піддається аеробному розкладанню.

Процес компостування контролюють за температурою, вологістю та доступом повітря для оптимізації розкладання органічних матеріалів мікроорганізмами.

Компостування триває від кількох тижнів до кількох місяців залежно від умов та типу біомаси.

### **Анаеробне зброджування (опційно):**

Біомаса може піддаватися анаеробному зброджуванню в біогазових установках, де відбувається розкладання органічних матеріалів без доступу повітря з утворенням біогазу.

Отриманий біогаз використовується як джерело енергії, а залишкова маса (дигестат) є цінним органічним добривом.

### **Ферментація:**

Після компостування або анаеробного зброджування отриманий продукт може піддаватися додатковій ферментації для стабілізації та підвищення вмісту поживних речовин.

### **Збагачення мінеральними елементами (опційно):**

До отриманого органічного компосту або дигестату можна додавати мінеральні компоненти, такі як азот, фосфор, калій та інші елементи для підвищення його живильної цінності.

### **Гранулювання та пакування:**

Готове добриво може бути гранульоване для зручності транспортування, зберігання та внесення у ґрунт.

Гранули пакують у мішки або іншу тару для подальшого використання або продажу.

Переваги переробки біомаси на добрива

**Екологічність:** Зменшення кількості відходів та запобігання їх потраплянню на сміттєзвалища.

**Поліпшення ґрунтів:** Підвищення родючості ґрунтів за рахунок органічних і мінеральних компонентів.

Зменшення використання хімічних добрив: Заміна частини або повного обсягу хімічних добрив органічними, що знижує негативний вплив на навколишнє середовище.

Економічність: Використання відходів як ресурсів, знижуючи витрати на придбання комерційних добрив.

### **Критичні точки**

**Контроль якості:** Забезпечення стабільної якості добрива та відповідність стандартам.

**Забруднення:** Запобігання забрудненню продукту важкими металами та іншими шкідливими речовинами.

**Технологічні складнощі:** Потреба у відповідному обладнанні та знаннях для ефективної переробки біомаси.

Процес переробки біомаси на мінеральне добриво є важливим інструментом для сталого розвитку сільського господарства та охорони довкілля.

Переробка пластику — це переробка пластикових відходів на інші продукти. Переробка може зменшити залежність від звалищ, зберегти ресурси та захистити навколишнє середовище від забруднення пластиком і викидів парникових газів. Рівень переробки відстає від рівня інших відновлюваних матеріалів, таких як алюміній, скло та папір.

Майже вся переробка є механічною: плавлення та перетворення пластику на інші предмети. Це може спричинити деградацію полімеру на молекулярному рівні та потребує сортування відходів за кольором і типом полімеру перед переробкою, що є складним і дорогим. Помилки можуть призвести до того, що властивості матеріалу будуть непостійними, що зробить його непривабливим для промисловості. Під час переробки вихідної сировини пластикові відходи перетворюються на вихідні хімічні речовини, які потім можуть стати свіжим пластиком. Це передбачає вищі енергетичні та капітальні витрати. Крім того, пластик можна спалити замість викопного палива, в

установках для відновлення енергії або біохімічно перетворити на інші корисні хімікати для промисловості.

Індустріальне виробництво паперу впливає на навколишнє середовище як вище за течією (де сировина отримується та переробляється), так і вниз за течією (вплив утилізації відходів). Сьогодні, 40% паперової маси виготовляється з деревини (на більшості сучасних заводів лише 9–16% целюлози виготовляється з целюлозних колод; решта походить із відходів деревини, які традиційно спалювали). На виробництво паперу припадає близько 35% вирубаних дерев. Переробка однієї тонни газетного паперу економить близько 1 тонни деревини, тоді як переробка 1 тонни паперу для друку чи копіювального паперу економить трохи більше 2 тонн деревини.

Переробка паперу це процес, за допомогою якого макулатура перетворюється на нові паперові вироби. Він має низку важливих переваг: не дозволяє макулатурі займати будинки людей і виробляти метан під час її руйнування. Оскільки паперове волокно містить вуглець (спочатку поглинений деревом, з якого воно було виготовлено), переробка дозволяє довше утримувати вуглець у замку та не потрапляти в атмосферу

Існує три категорії паперу, які можна використовувати як сировину для виготовлення вторинного паперу : уламки, відходи до споживання та відходи після споживання .Уламки — це обрізки паперу та інший паперовий брухт від виробництва паперу, який переробляється на паперовій фабриці . Попередні споживчі відходи – це матеріали, які покинули паперову фабрику, але були викинуті до того, як були готові до споживчого використання. Споживацькі відходи — це матеріали, які викидаються після споживчого використання, наприклад, старі гофровані контейнери (ОСС), старі журнали та газети. Папір, придатний для вторинної переробки, називається «скрап-папером» і часто використовується для виробництва формованої целюлозної упаковки.

Процес переробки макулатури найчастіше передбачає змішування використаного/старого паперу з водою та хімічними речовинами для його розщеплення. Потім його подрібнюють і нагрівають, що розбиває його на нитки

целюлози, типу органічного рослинного матеріалу; ця отримана суміш називається пульпою, або суспензією. Його проціджують через сита , які видаляють пластик (особливо з паперу з пластиковим покриттям ), який може все ще бути в суміші. Потім його очищають, видаляють чорнило (чорнило видаляють), відбілюють і змішують з водою. Потім з нього можна зробити новий перероблений папір. Частка чорнила в складі макулатури становить близько 2% від загальної маси

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Probiotic white cheese production using coculture with *Lactobacillus* species isolated from traditional cheeses.2018.Електронний ресурс:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5993754/>
2. Aline Rault,Marielle Bouix,and Catherine Béal.Fermentation pH Influences the Physiological-State Dynamics of *Lactobacillus bulgaricus* CFL1 during pH-Controlled Culture .2009 – 4374 p.
3. Influence of environmental factors on growth and pigment synthesis by purple thiobacteria.2007.Електронний ресурс:  
<https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=DJ20220520673>
4. *Lactobacillus fermentum*: a bacterial species with potential for food preservation and biomedical applications.2019.Електронний ресурс:  
[https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31729242/#:~:text=Lactobacillus%20fermentum%20\(Lb.,gastrointestinal%20and%20upper%20respiratory%20infections.](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31729242/#:~:text=Lactobacillus%20fermentum%20(Lb.,gastrointestinal%20and%20upper%20respiratory%20infections.)
5. Determination of an economical medium for growth of *Lactobacillus fermentum* using response surface methodology.2009.Електронний ресурс:  
<https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1472-765X.2009.02705.x>
6. Probiotic Cheese Production Using *Lactobacillus casei* Cells Immobilized on Fruit Pieces. 2006. Електронний ресурс:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030206722123>
7. *Lactobacillus fermentum*: Could EPS production ability be responsible for functional properties.2020.Електронний ресурс:  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32336376/>
8. *Lactobacillus fermentum*: a bacterial species with potential for food preservation and biomedical applications.2019.Електронний ресурс
9. Пирог Т.П. Загальна мікробіологія: підручник, 2-е вид., доп. і перероб. / Т.П. Пирог. – К. :НУХТ, 2010. – 652 с

10. Functional Profile Evaluation of *Lactobacillus fermentum* TCUESC01: A New Potential Probiotic Strain Isolated during Cocoa Fermentation. 2017. Электронный ресурс:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5541819/>
11. Montel M.C, Buchin S, Mallet A, Delbes-Paus C, Vuitton D.A, Desmasures N, Berthier F. Traditional cheeses: Rich and diverse microbiota with associated benefits. *Int. J. Food. Microbiol.* 2014;177:136–154
12. Mannan S.J, Rezwan R, Rahman M.S, Begum K. Isolation and biochemical characterization of *Lactobacillus* species from yogurt and cheese samples in dhaka metropolitan area. *Bangladesh Pharm. J.* 2017;20:27–33.
13. Ravinder Nagpal, Ashwani Kumar, Manoj Kumar, Pradip V. Behare, Shalini Jain, Hariom Yadav. Probiotics, their health benefits and applications for developing healthier foods: a review, 334(1): 1-15 doi.org/10.1111/j.1574-6968.2012.02593.x
14. National Center for Complimentary and Integrative Health. August 2019. Электронный ресурс:  
<https://www.nccih.nih.gov/health/probiotics-what-you-need-to-know>
15. Probiotic Cheese Production Using *Lactobacillus casei* Cells Immobilized on Fruit Pieces. 2006. Электронный ресурс:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030206722123>
16. Probiotic white cheese production using coculture with *Lactobacillus* species isolated from traditional cheeses. 2018. Электронный ресурс:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5993754/>
17. Determination of an economical medium for growth of *Lactobacillus fermentum* using response surface methodology. 2009. Электронный ресурс:  
<https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1472-765X.2009.02705.x>
18. Katarzyna Śliżewska and Agnieszka Chlebicz-Wójcik. Growth Kinetics of Probiotic *Lactobacillus* Strains in the Alternative, Cost-Efficient Semi-Solid Fermentation Medium, 9(12): 423, doi: 10.3390/biology9120423

19. Dronkers T.M.G., Krist L., Van Overveld F.J., Rijkers G.T. The ascent of the blessed: Regulatory issues on health effects and health claims for probiotics in Europe and the rest of the world. *Benef. Microbes*. 2018, 9(5):717-723.
20. Оніщенко Б.О., Зоценко В.М. Нормалізація мікробіоценозу шлунково-кишкового тракту пробіотиками. *Акт. пробл. ветеринар. мед.: матеріали наук. практ. конф. студ.* 2019, 127-130
21. Xingchang Zh., Xia Ch., Qi Zh. Study on the optimization of enrichment medium of *Lactobacillus fermentum* F6 and its high-density cultivation. *J. of Dairy Sci. and Techn.* 2010, 3(142): 101-107. doi:10.15922/j.cnki.jdst.2010.03.009
22. Crow J.R., Davis S.L., Chaykosky D.M. et al. Probiotics and Fecal Microbiota Transplant for Primary and Secondary Prevention of *Clostridium difficile* Infection. *Pharmacotherapy*. 2015, 35(11): 1016-1025.
23. Dronkers T.M.G., Krist L., Van Overveld F.J., Rijkers G.T. The ascent of the blessed: Regulatory issues on health effects and health claims for probiotics in Europe and the rest of the world. *Benef. Microbes*. 2018, 9(5):717-723.
24. Karthik M., Bhavan P.S., Muralisankar Th. Dietary supplementation of *Lactobacillus fermentum* for improving the survival, growth and nutritional profiles of the prawn *Macrobrachium rosenbergii*, and 16S rDNA based identification of its establishment. *ScholReps*. 2018, 1(3): 38-62
25. ULAB 102. Електронний ресурс: [https://labormarket.com.ua/p1521519797-spektrofotometr-ulab-102.html?source=merchant\\_center&utm\\_source=google&utm\\_medium=cpc&utm\\_campaign=20115123075&utm\\_network=g&utm\\_adposition=&utm\\_device=c&utm\\_matchtype=&utm\\_target=&utm\\_group=155817806104&utm\\_term=&gclid=Cj0KCQjw4NujBhC5ARIsAF4Iv6dMXq5kORDYUogTuuFXm243vay388dWTa0JqG\\_Pl6KxZ7W23p6pcKwaAp8GEALw\\_wcB](https://labormarket.com.ua/p1521519797-spektrofotometr-ulab-102.html?source=merchant_center&utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_campaign=20115123075&utm_network=g&utm_adposition=&utm_device=c&utm_matchtype=&utm_target=&utm_group=155817806104&utm_term=&gclid=Cj0KCQjw4NujBhC5ARIsAF4Iv6dMXq5kORDYUogTuuFXm243vay388dWTa0JqG_Pl6KxZ7W23p6pcKwaAp8GEALw_wcB)
26. Ravinder Nagpal, Ashwani Kumar, Manoj Kumar, Pradip V. Behare, Shalini Jain, Hariom Yadav. Probiotics, their health benefits and applications for developing healthier foods: a review, 334(1): 1-15 doi.org/10.1111/j.1574-6968.2012.02593.x
27. National Center for Complimentary and Integrative Health. August

2019.Електронний ресурс:

<https://www.nccih.nih.gov/health/probiotics-what-you-need-to-know>

28.Probiotic Cheese Production Using *Lactobacillus casei* Cells Immobilized on Fruit Pieces. 2006. Електронний ресурс:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030206722123>

29.Probiotic white cheese production using coculture with *Lactobacillus* species isolated from traditional cheeses.2018.Електронний ресурс:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5993754/>

30.Determination of an economical medium for growth of *Lactobacillus fermentum* using response surface methodology.2009.Електронний ресурс:

<https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1472-765X.2009.02705.x>

31.Katarzyna Śliżewska and Agnieszka Chlebicz-Wójcik.Growth Kinetics of Probiotic *Lactobacillus* Strains in the Alternative, Cost-Efficient Semi-Solid Fermentation Medium, 9(12): 423, doi: 10.3390/biology9120423

32.Dronkers T.M.G., Krist L.,Van Overveld F.J., Rijkers G.T. The ascent of the blessed: Regulatory issues on health effects and health claims for probiotics in Europe and the rest of the world. *Benef.Microbes*. 2018, 9(5):717-723.

33.Оніщенко Б.О., Зоценко В.М. Нормалізація мікробіоценозу шлунково-кишкового тракту пробіотиками. *Акт. пробл. ветеринар. мед.: матеріали наук. практ. конф. студ.* 2019, 127-130

34.Xingchang Zh., Xia Ch., Qi Zh. Study on the optimization of enrichment medium of *Lactobacillus fermentum* F6 and its high-density cultivation. *J. of Dairy Sci. and Techn.* 2010, 3(142): 101-107. doi:10.15922/j.cnki.jdst.2010.03.009

35.Crow J.R., Davis S.L., Chaykosky D.M. et al. Probiotics and Fecal Microbiota Transplant for Primary and Secondary Prevention of *Clostridium difficile* Infection. *Pharmacotherapy*. 2015, 35(11): 1016-1025.

36.Dronkers T.M.G., Krist L.,Van Overveld F.J., Rijkers G.T. The ascent of the blessed: Regulatory issues on health effects and health claims for probiotics in Europe and the rest of the world. *Benef.Microbes*. 2018, 9(5):717-723.

37. Karthik M., Bhavan P.S., Muralisankar Th. Dietary supplementation of *Lactobacillus fermentum* for improving the survival, growth and nutritional profiles of the prawn *Macrobrachium rosenbergii*, and 16S rDNA based identification of its establishment. *ScholReps*. 2018, 1(3): 38-62
38. ULAB 102. Електронний ресурс: [https://labormarket.com.ua/p1521519797-spektrofotometr-ulab-102.html?source=merchant\\_center&utm\\_source=google&utm\\_medium=cpc&utm\\_campaign=20115123075&utm\\_network=g&utm\\_adposition=&utm\\_device=c&utm\\_matchtype=&utm\\_target=&utm\\_group=155817806104&utm\\_term=&gclid=Cj0KCQjw4NujBhC5ARIsAF4Iv6dMXq5kORDYUogTuuFXm243vay388dWTa0JqG\\_Pl6KxZ7W23p6pcKwaAp8GEALw\\_wcB](https://labormarket.com.ua/p1521519797-spektrofotometr-ulab-102.html?source=merchant_center&utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_campaign=20115123075&utm_network=g&utm_adposition=&utm_device=c&utm_matchtype=&utm_target=&utm_group=155817806104&utm_term=&gclid=Cj0KCQjw4NujBhC5ARIsAF4Iv6dMXq5kORDYUogTuuFXm243vay388dWTa0JqG_Pl6KxZ7W23p6pcKwaAp8GEALw_wcB)
39. Адамович І. В., Вовк К. В., Літвін О. І. Аналіз захворюваності хвороб органів травлення в студентській популяції та профілактичні заходи їх подолання. *Клін. та профілакт. мед.* 2018, 3 (63): 5-8.
40. Рингач Н.О., Керецман А.О. Хвороби органів травлення: історичні паралелі змін класифікації та епідеміологічної ситуації. *Гастроентерологія. Сем. мед.* 2015, 4 (60): 137-141.
41. Проданчук М.Г., Подрушняк А.Є. Проблеми безпечності біологічно активних добавок. *Проб. харч.* 2004. - №2. С. 2; 4-9.
42. Лапшин О.В., Одинець М.О. Кишкова мікрофлора: вплив на здоров'я людини. *Ліки України. Кардіоневрологія.* 2014, (7–8): 183–184. 133
43. Волосянко О. В., Ушкалов В. О. Терещенко С. А. Біологічні властивості лактобацил. *Огляд. Національний університет біоресурсів і природокористування України* 2018, 119-127.
44. Naghmouchi K., Belguesmia Yan., Bendali F., Spano G. *Lactobacillus fermentum*: a bacterial species with potential for food preservation and biomedical applications. *Crit. Rev. in F. Sci. and Nutr.* 2019, 1-13.
45. Doron S, Snyderman DR. Risk and safety of probiotics. 2015. doi:10.1093/cid/civ085,p.129–234.

46. N. Altawell. The Selection Process of Biomass Materials for the Production of Bio-Fuels and Co-firing. 2014. – p 384
47. Edward Seabra Júnior, João Carlos Colmenero, Aldo Braghini Junior. Biomass Selection Method to Produce Biogas with a Multicriteria Approach. 2020. – p 3169–3177
48. Rijkers GT, de Vos WM, Brummer RJ, et al. Health benefits and health claims of probiotics: Bridging science and marketing. British Journal of Nutrition. 2011 p.1291–1296.
49. Nicoleta Rusu. Methods for Separation and Analysis of a Lactobacillus Biomass, Able to be Used for Health Improvement and Convalescence. 2020. - p.185-187
50. Elizete de F. R. Pancheniak, Maíke T. Maziero, José A. Rodríguez-León. Molecular characterisation and biomass and metabolite production of *Lactobacillus reuteri* LPB P01–001: A potential probiotic. 2012. – p.135–147
51. ua.iherb.com. [Електронний ресурс]: <https://pr/dr-ohhira-s-reg-activ-immune-vitality-60-capsules/85691>
52. ІНСТРУКЦІЯ щодо застосування засобу "Фамідез® Санокварт" з метою дезінфекції. [Електронний ресурс]: <https://famidez.ua/doc/2020%20MI%20Famidez%20Sanokvart.pdf>
53. dezmed.com.ua. [Електронний ресурс]: <https://dezmed.com.ua/instruktsiia/item/aniosept-aktiv-ua-instruktsiya/>
54. solnex.com.ua. [Електронний ресурс]: <https://solvex.com.ua/products/grin-lajn-forte-1000-ml>
55. famidez.ua [Електронний ресурс]: <https://famidez.ua/doc/2020%20MI%20Famidez%20Forte.pdf>
56. chila.ua [Електронний ресурс]: [https://chila.ua/uploads/product\\_documents/94/4a/euccebj0o\\_b3dd39d9.pdf](https://chila.ua/uploads/product_documents/94/4a/euccebj0o_b3dd39d9.pdf)