

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій  
Кафедра біотехнології, шкіри та хутра

**ДИПЛОМНИЙ БАКАЛАВРСЬКИЙ ПРОЄКТ**

на тему: «Технологія отримання Лактобактерину»

Виконала: студентка групи ББТск-20  
Спеціальності 162 Біотехнології та  
біоінженерія  
Єлизавета ГОРЛАТЕНКО  
Науковий керівник: к.т.н., доцент  
Олена ОХМАТ  
Рецензент: к.т.н., доцент  
Ірина ВОЛОШИНА

Київ 2023

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій  
Кафедра біотехнології, шкіри та хутра  
Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія  
Освітня програма Біотехнологія

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

Завідувач кафедри  
біотехнології, шкіри та хутра  
д.т.н., проф. Олена МОКРОУСОВА

« \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2023 р.

**ЗАВДАННЯ**  
**НА ДИПЛОМНИЙ БАКАЛАВРСЬКИЙ ПРОЄКТ СТУДЕНТУ**  
**Горлатенко Єлизаветі Сергіївні**

1. Тема дипломного бакалаврського проєкту Технологія отримання Лактобактерину  
Науковий керівник проєкту Охмат Олена Анатоліївна, к.т.н., доцент  
затверджені наказом КНУТД від «08» листопада 2022 року № 224-уч.
2. Строк подання студентом дипломного проєкту \_\_\_\_\_
3. Вихідні дані дипломного проєкту: завдання на дипломний бакалаврський проєкт; наукова література щодо технології виробництва Лактобактерину; технологічні схеми промислового отримання Лактобактерину; матеріали переддипломної практики
4. Зміст дипломного проєкту: техніко-економічне обґрунтування, обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва, характеристика біологічного агенту, опис технологічної схеми, контроль якості
5. Дата видачі завдання \_\_\_\_\_

## 6. КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів дипломного бакалаврського проєкту	Терміни виконання етапів	Примітка про виконання
1	Вступ		
2	Розділ 1 Техніко-економічне обґрунтування		
3	Розділ 2 Обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва		
4	Розділ 3 Характеристика біологічного агента		
5	Розділ 4 Опис технологічної схеми		
6	Розділ 5 Контроль якості		
7	Висновки		
8	Оформлення дипломного бакалаврського проєкту		
9	Подання дипломного бакалаврського проєкту на кафедру для рецензування		
10	Перевірка дипломного бакалаврського проєкту на наявність ознак плагіату		
11	Подання дипломного бакалаврського проєкту на затвердження завідувачу кафедри		

Студент \_\_\_\_\_ Єлизавета ГОРЛАТЕНКО

Науковий керівник \_\_\_\_\_ Олена ОХМАТ

Рецензент \_\_\_\_\_ Ірина ВОЛОШИНА

## АНОТАЦІЯ

**Єлизавета Горлатенко. Технологія виробництва Лактобактерину – Рукопис.**

Дипломний бакалаврський проєкт за спеціальністю 162 «Біотехнології та біоінженерія». – Київський національний університет технологій та дизайну, Київ, 2023 рік.

Дипломний бакалаврський проєкт присвячено технології виробництва біомаси Лактобактерину за допомогою штаму *Lactobacillus plantarum* LLY-606 у відповідності до техніко-економічного обґрунтування.

У дипломному проєкті обґрунтовано технологію культивування *Lactobacillus plantarum* LLY-606, представлено технологічну схему виробництва біомаси Лактобактерину. Обґрунтовано вибір біологічного високопродуктивного штаму, склад поживного середовища, умови культивування та вибір технологічного обладнання. Проведено вихідні розрахунки для реалізації технологічної схеми. Проектна технологічна схема передбачає стадію допоміжних робіт, технологічний процес, стадію знешкодження відходів. Обрано методики контролю культуральної рідини.

*Ключові слова: Лактобактерин, Lactobacillus plantarum, культивування, контроль якості, біосинтез*

					ДБП.ПЗ.162.07			
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата				
Розробив		Горлатенко Є.С.			АНОТАЦІЯ	Літ.	Аркуш	Аркушів
Перевірив		Охмат О.А.						
Н.Контр.								
Затвердив								
						КНУТД, гр. ББТск-20		

## ABSTRACT

Yelyzaveta Horlatenko. Technology for the production of Lactobacterin – Manuscript.

Diploma bachelor's project for the specialty 162 "Biotechnologies and bioengineering". – Kyiv National University of Technology and Design, Kyiv, 2023 rec.

Diploma bachelor's project is dedicated to the technology of biomass production of Lactobacterin for an additional strain of *Lactobacillus plantarum* LLY-606 in the performance to technical and economic priming.

In the diploma project, the technology of cultivation of *Lactobacillus plantarum* LLY-606 was primed; a technological scheme for the cultivation of Lactobacterin biomass was presented. It was primed with a choice of a biologically highly productive strain, a storage of a living medium, a wash of cultivation and a choice of technological possession. Conducted inspections for the implementation of the technological scheme. The project technological scheme transfers the stage of additional work, the technological process, the stage of outsourcing. Methods for the control of cultural ridini were selected.

*Key words: Lactobacterin, Lactobacillus plantarum, cultivation, viability control, biosynthesis.*

					ДБП.ПЗ.162.07		
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата			
Розробив	Горлатенко Є.С.				Літ.	Аркуш	Аркушів
Перевірів	Охмат О.А.						
Н.Контр.					КНУТД, гр. ББТск-20		
Затвердив							
ABSTRACT							

## ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ .....	4
ВСТУП .....	8
РОЗДІЛ 1 ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ.....	11
1.1 Характеристика цільового продукту.....	11
1.2 Потреба у цільовому продукті.....	13
1.3 Розрахунок потужності виробництва .....	14
1.4 Розрахунок кількості виробничих циклів отримання культуральної рідини та розрахунок об'єму ферментера .....	15
РОЗДІЛ 2 ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИРОБНИЦТВА .....	16
2.1 Обґрунтування вибору біологічного агенту та поживного середовища для його культивування.....	16
2.2 Обґрунтування способу проведення біосинтезу.....	21
2.3 Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу, підготовка поживного середовища та параметри стерилізації.....	23
2.4 Обґрунтування способу приготування і стерилізації поживного середовища для одержання інокуляту і виробничого біосинтезу .....	25
РОЗДІЛ 3 ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА .....	28
3.1 Таксономічний статус.....	28
Штам має адгезивні властивості та стійкість до антибіотиків: гентаміцину, канаміцину, тетрацикліну, еритроміцину, кліндаміцину, хлорамфеніколу, ванкоміцину, ампіциліну.....	29
3.2 Морфологічно-культуральні властивості.....	29
3.3 Фізіолого-біохімічні ознаки.....	30
РОЗДІЛ 4 ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ .....	31
4.1 Поетапна блок-схема технології.....	31
4.2 Опис технологічної схеми.....	32

					<i>ДБП.ПЗ.162.07</i>			
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата				
Розробив		<i>Горлатенко Є.С.</i>			<b>ЗМІСТ</b>	Літ.	Аркуш	Аркушів
Перевірив		<i>Охмат О.А.</i>						
Н.Контр.						<i>КНУТД, гр. ББТск-20</i>		
Затвердив								

РОЗДІЛ 5 КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ .....	45
5.1 Мікробіологічна чистота культури .....	45
5.2 Визначення концентрації біомаси .....	46
5.3 Визначення кількості живих лактобактерій.....	47
5.4 Контроль пробіотичних властивостей .....	47
ВИСНОВКИ.....	49
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	50
Додаток А.....	53
Додаток Б .....	54

## ВСТУП

**Актуальність теми.** На даний момент, все більшої популярності набуває інтерес до здорового способу життя, підтримки здорової мікрофлори людини та покращення загального стану організму. В той же час, підвищений розвиток інфекцій, антибіотикорезистентність та ряд інших проблем зі здоров'ям шлунково-кишкового тракту зумовлюють необхідність в пошуку ефективних пробіотичних продуктів, які мають високу стабільність і здатні справляти позитивний вплив на мікрофлору. На основі цієї зацікавленості виріс попит на пробіотичні препарати, один з видів яких є пробіотики на основі лактобактерій.

Відомо, що лактобактерії є молочнокислими бактеріями – невід'ємною частиною здорової мікрофлори людини. Вони активні в порожнині рота, органах дихання, в тонкому кишківнику, на шкірі та в статевих органах. Лактобактерії беруть участь в імунному захисті організму, активно борються з патогенами, беруть участь в процесах секреції та ліпідному обміні, протистоять алергічним реакціям. Вони є набагато активнішими, ніж біфідобактерії. Вони також мають потенціал застосування в харчовій промисловості для покращення якості продуктів, таких як йогурти, сири та квасолі. Окрім того, виробництво лактобактерину може бути важливим у фармацевтичній та ветеринарній галузях. Пробиотики на основі лактобактерій можуть використовуватися для розробки нових лікарських препаратів, дієтичних добавок та кормових добавок для тварин.

					<i>ДБП.ПЗ.162.07</i>			
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата				
Розробив		<i>Горлатенко Є.С.</i>			<i>ВСТУП</i>	Літ.	Аркуш	Аркушів
Перевірив		<i>Охмат О.А.</i>						
Н.Контр.					<i>КНУТД, гр. ББТск-20</i>			
Затвердив								



Одним з найпопулярніших препаратів на основі лактобактерій є Лактобактерин. Одна з найактуальніших областей дослідження виробництва лактобактерину полягає в розробці ефективних методів культивування та масового виробництва лактобактерій з високою якістю і стабільністю для споживання людиною. Дослідження спрямовані на оптимізацію умов культивування, вибір підходящих поживних середовищ, оптимальних параметрів температури, рН та інших факторів, які впливають на ріст і розмноження лактобактерій. З урахуванням цих відомостей ми можемо бути впевненими, що тема виробництва Лактобактерину є актуальною та має потенціал для подальшого дослідження та розвитку.

**Мета** роботи полягає у використанні високопродуктивного штаму *Lactobacillus plantarum* LLY-606 для промислового виробництва біомаси Лактобактерину.

**Завдання роботи:**

1. Вивчити властивості цільового продукту.
2. Визначити ефективність застосування окремих штамів лактобактерій для виробництва біомаси Лактобактерину.
3. Провести розрахунок потужності підприємства для виробництва біомаси Лактобактерину.
4. Обґрунтувати та скласти схему виробництва біомаси Лактобактерину.
5. Обґрунтувати методи контролю на виробництві.

**Об'єктом дослідження** є властивості штаму *Lactobacillus plantarum* LLY-606 та його застосування для отримання біомаси Лактобактерину.

**Предмет дослідження** – технологія отримання біомаси Лактобактерину.

**Методи дослідження** – добір та аналіз наукової та технічної інформації.

											Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата							

ДБП.ПЗ.162.07

**Новизна одержаних результатів** – розроблено схему отримання біомаси Лактобактерину за рахунок культивування штаму *Lactobacillus plantarum* LLY-606.

**Практичне значення одержаних результатів** обумовлене широкою практикою застосуванням пробіотиків у галузі охорони здоров'я.

**Апробація.** Результати роботи за темою оприлюднено на Міжнародній науково-практичній Інтернет-конференції «Актуальні питання біотехнології, екології та природокористування» (ДБТУ, Харків, 27-28 квітня 2023 р.). Участь у конференції підтверджена сертифікатом учасника (Додаток А).

**Публікації.** За темою дипломної роботи опубліковано тези доповіді конференції міжнародного рівня (Додаток Б).

Горлатенко Є. С., Охмат О. А. Лактобактерії та їх пробіотичні властивості. *Актуальні питання біотехнології, екології та природокористування* : Матер. Міжнар. наук.-практ. Інтернет-конф. (Харків, 27-28 квітня 2023 р.). Харків : ДБТУ, 2023. С. 53–54.

**Структура та обсяг дипломної магістерської роботи.** Дипломна бакалаврська робота викладена на 56 сторінках, містить 5 розділів, висновки та список використаної літератури з 27 джерел, 2 додатка.

					ДБП.ПЗ.162.07	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

# РОЗДІЛ 1

## ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ

### 1.1 Характеристика цільового продукту

Наразі відомо, що пробіотики, які містять в складі живі лактобактерії, дуже широко застосовують для нормалізації мікрофлори кишківника та піхви людини. Нормальна мікрофлора здорової людини включає безліч видів лактобактерій. А це у свою чергу пояснює широку практику застосування в галузі охорони здоров'я пробіотиків, отриманих з представників мікрофлори людини. Одним з таких пробіотиків є лікарський засіб Лактобактерин.

Лактобактерин – пробіотик, що складається з ліофілізату живих мікроорганізмів (а саме, лактобактерій), які продукують молочну кислоту. Лактобактерії, які входять у склад пробіотику, сприяють зменшенню запальних процесів шляхом нормалізації загального складу мікрофлори організму людини. Лактобактерії здатні стимулювати продукування ферментів, необхідних для підвищення ефективності процесів травлення, та посилюють регенерацію слизової оболонки кишківника у людини; можуть зменшити у неї прояви побічних ефектів при застосуванні антибіотиків. Лактобактерії відомі також своїми імуномодельючими, антиоксидантними, й антагоністичними властивостями.

При виробництві Лактобактерину використовують один штам або асоціацію штамів одного виду лактобактерій. Здебільшого препарат містить штами лактобактерій *Lactobacillus fermentum*, або *Lactobacillus plantarum*, або *Lactobacillus acidophilus*.

					ДБП.ПЗ.162.07			
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата				
Розробив		Горлатенко Є.С			РОЗДІЛ 1 ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ	Літ.	Аркуш	Аркушів
Перевірив		Охмат О.А.				Д		
Н.Контр.					КНУТД, зр. ББТск-20			
Затвердив								

Фармакотерапевтична група, до якої відносять Лактобактерин – антидіарейні мікробні препарати, що містять організми, які продукують молочну кислоту. Відповідно до міжнародної системи класифікації лікарських засобів АТХ (анатоμο-терапевтично-хімічна класифікації ВООЗ) Лактобактерину присвоєно код АТХ А07F А01 [1]:

А – Засоби, що діють на травну систему і метаболізм;

А07 – Протидіарейні препарати;

А07F – Протидіарейні мікробні препарати;

А07F А01 – Лактобактерії.

Лактобактерин можуть випускати у вигляді порошку (лікарський засіб) [2], супозиторіїв (безрецептурний препарат), рідше у вигляді капсул (дієтична добавка) [3]. Лактобактерин сухий – порошок бежево-жовтуватого кольору, який при додаванні води утворює гомогенну завись. Препарат є кристалічною висушеною мікробною масою живих лактобактерій. Запах і смак Лактобактерину є кисломолочним.

Для перорального прийому Лактобактерин сухий розводять водою з температурою не вище + 40 ° С. Розведення проводять кип'яченою водою кімнатної температури з розрахунку 1 чайна ложка на 1 дозу препарату. Для дорослих добова доза складає 6-10 чайних ложок (доз), при цьому добова доза ділиться на 2-3 прийоми. Препарат приймають за 40-60 хвилин до прийому їжі. Тривалість прийому Лактобактерину з метою профілактики порушень біоценозу кишківника складає 3-4 тижні, з метою лікування – до 6 тижнів.

В гінекологічній практиці розчин Лактобактерину застосовують інтравагінально, вводячи просочений розчином марлевий тампон на 2-3 години. Тривалість застосування Лактобактерину для передпологового відновлювання чистоти вагінального секрету складає 5-8 днів. При лікуванні запальних захворюваннях статевих органів тривалість застосування Лактобактерину складає 10-12 днів.

									Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата					

ДБП.ПЗ.162.07

Пробіотичний препарат можна застосовувати з профілактичною та лікувальною метою. Лактобактерин застосовують:

- для профілактики та лікування порушень органів травлення;
- для попередження виникнення дисфункцій кишківника (наприклад, діареї, закрепи), пов'язаних зі зміною харчового раціону або ж прийому антибіотиків;
- для відновлення нормальної мікрофлори кишківника, особливо при антибіотикотерапії;
- для підвищення неспецифічної резистентності та імунологічного статусу організму;
- при вагінальному дисбактеріозі або його профілактиці;
- при підготовці до планових гінекологічних операцій тощо.

## 1.2 Потреба у цільовому продукті

В останні роки спостерігається стабільне збільшення у населення України кількості випадків захворювання шлунково-кишкового тракту (ШКТ). Основною причиною такого зростання можна назвати споживання населенням їжі швидкого приготування. Ще однією з причин є неконтрольований прийом лікарських засобів, у тому числі антибіотиків, що чинять негативний вплив на мікрофлору кишківника, а при постійному застосуванні можуть викликати у людини хронічні захворювання. З 2020 року ще одним чинником розладу ШКТ є захворювання, спричинене зараженням SARS-CoV-2.

При розладах ШКТ доцільним є застосування препаратів, що містять лактобактерії. Терапевтичний ефект таких препаратів заснований на властивостях лактобактерій, які володіють антагоністичною активністю до умовно– або патогенних мікроорганізмів, і створюють умови для розвитку корисної мікрофлори у кишківнику. Терапевтичний ефект пояснюється спроможністю лактобактерій продукувати молочну кислоту, здатністю стимулювати виділення лізоциму, підвищувати поглинання клітинами крові

патогенних мікроорганізмів, стимулювати виділення шлункового соку та слини, сприяти синтезу деяких вітамінів групи В тощо.

Інструкцією лікарського засобу передбачено, що Лактобактерин необхідно приймати 2-3 рази на добу, по 3 дози за один прийом. Отже, приймаємо мінімальну кількість доз та прийомів і розраховуємо мінімальну дозу Лактобактерину за добу:

$$N_{\text{lact}} = 2 \cdot 3 = 6 \text{ доз.}$$

Враховуючи тривалість прийому Лактобактерину для профілактики розвитку порушень біоценозу кишківника, яка складає 3-4 тижні, розраховуємо кількість прийомів за мінімальний курс:

$$N_{\text{курс}} = 2 \cdot 21 = 42 \text{ прийоми.}$$

Визначаємо кількість Лактобактерину за курс прийому:

$$N_{\text{lact/курс}} = 3 \cdot 42 = 126 \text{ доз.}$$

### 1.3 Розрахунок потужності виробництва

На 1 січня 2022 року чисельність населення України сягає 43528136 осіб, включно з тимчасово окупованими територіями Донецької та Луганської областей та Автономною Республікою Крим.

Згідно з даними Центру громадського здоров'я України [4] 64 % людей вважає, що грип та застуду можна лікувати лише антибіотиками. Тож виходить, що 27858007 осіб приймає антибіотики, а потенційно – пробіотичні препарати.

Список виробників пробіотиків на основі лактобактерій включає: НВК «О.Д. Пролісок», Україна (Симбітер); ТОВ «Фармацевтична компанія «Ензифарм», Україна (Лактобактерин Ензифарм); PharmaSuisse Laboratories Srl., Італія (Lactocare); Institut Rosell, Канада (Lacidofil); Unic Biotech Ltd., Індія (Пробізі); Lek Pharmaceuticals d. d., Slovenia (Лінекс); Pharmascience Inc., Канада (Йогурт канадський); Софарма, Болгарія (Бажана) та інші.

										Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата						

ДБП.ПЗ.162.07



## РОЗДІЛ 2

### ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИРОБНИЦТВА

#### 2.1 Обґрунтування вибору біологічного агенту та поживного середовища для його культивування

Як вже було зазначено у першому розділі препарат Лактобактерин здебільшого містить штами лактобактерій *Lactobacillus fermentum*, або *Lactobacillus plantarum*, або *Lactobacillus acidophilus*.

Однак, кожен штам має свої особливості: адгезивну активність, стійкість до антибактеріальної дії біологічних рідин, антагоністичну активність і антибіотикочутливість. Для того, щоб обрати ефективний штам для культивування, необхідно порівняти їх, враховуючи і економічні фактори, і доцільність використання.

Для порівняння обираємо штами: *Lactobacillus plantarum* LLY-606, *Lactobacillus fermentum* HAFI5007. Зазначене порівняння проводимо у два етапи.

На першому етапі відбору порівняємо показники отримання Лактобактерину. В табл. 2.1 представлено інформацію щодо складу поживного середовища для культивування штамів, тривалість культивування та очікуваний рівень показника кількості життєздатних мікроорганізмів в одиниці об'єму (КУО).

З таблиці видно, що штам *Lactobacillus plantarum* LLY-606 синтезує  $1 \cdot 10^{10}$  КУО [5], а штам *Lactobacillus fermentum* HAFI5007 синтезує  $4 \cdot 10^8$  за умови однакової тривалості циклу [6].

					ДБП.ПЗ.162.07			
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата				
Розробив		Горлатенко Є.С			РОЗДІЛ 2 ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИРОБНИЦТВА	Літ.	Аркуш	Аркушів
Перевірив		Охмат О.А.				Д		
Н.Контр.					КНУТД, гр. ББТск-20			
Затвердив								



Таблиця 2.1 – Порівняльна характеристика реалізації культивування штамів

*Lactobacillus plantarum* LLY-606 та *Lactobacillus fermentum* HAFI5007

Біологічний агент	Склад поживного середовища, г/л	Показник синтезу, КУО	Тривалість процесу, год.	Особливості здійснення процесу	Використана література
1	2	3	4	5	6
<i>Lactobacillus plantarum</i> LLY-606	Пептон – 10 М'ясний екстракт – 10 Дріжджовий екстракт – 5 $K_2HPO_4$ – 2 $C_6H_{17}N_3O_7$ – 2 $C_2H_3NaO_2$ -5 Глюкоза – 20 Твін 80 – 1 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,1 $MnSO_4 \cdot 4H_2$ – 0,05 Агар – 1,75	$1 \cdot 10^{10}$	24-48	Температура: 37 °С; рівень рН 6,4–6,5	[5]

Зм.

Аркуш

№ Документа

Підпис

Дата

ДБЛ.ЛЗ.162.07

Аркуш

Продовження табл. 2.1

1	2	3	4	5	6
<p><i>Lactobacillus fermentum</i> NAFI5007</p>	<p>Триптон – 10 М'ясний екстракт – 10 Дріжджовий екстракт – 5 Глюкоза – 10 Пектиноза – 5 Сахароза – 5 C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>NaO<sub>2</sub> – 15 Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub> – 2 K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> – 6 MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O – 0,58 Mn(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> – 0,25 FeSO<sub>4</sub> – 0,03 Твін 80 – 1 Агар – 1,3</p>	<p>4·10<sup>8</sup></p>	<p>24-48</p>	<p>Температура: 37 °С; рівень рН 6,3–6,7</p>	<p>[6]</p>

Зм.	
Аркуш	
№ Документа	
Підпис	
Дата	

ДБЛ.ПЗ.162.07

Аркуш

На другому етапі проводимо порівняння економічної складової культивування – вартості поживного середовища для обраних штамів (табл. 2.2).

Таблиця 2.2 – Вартість поживних середовищ для культивування штамів *Lactobacillus plantarum* LLY-606 та *Lactobacillus fermentum* HAFI5007

Продуцент	Компонент поживного середовища, г/л	Ціна компонента, грн/кг	Вартість компонента на 1 л середовища, грн	Джерело
<i>Lactobacillus plantarum</i> LLY-606	Пептон – 10	1600,00	16,00	[7]
	М'ясний екстракт – 10	9424,00	94,24	[8]
	Дріжджовий екстракт – 5	2620,00	13,10	[9]
	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> – 2	26,00	0,052	[10]
	C <sub>6</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>7</sub> – 2	330,50	0,661	[11]
	C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> NaO <sub>2</sub> – 5	193,60	0,968	[12]
	Глюкоза – 20	130,00	2,60	[13]
	Твін 80 – 1	365,00	0,365	[14]
	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O – 0,1	82,00	0,0082	[15]
	MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O – 0,25	57,60	0,0144	[16]
	Агар – 1,75	1320,00	1,32	[17]
	<b>Вартість 1 л середовища – 130,32 грн.</b>			
<i>Lactobacillus fermentum</i> HAFI5007	Триптон – 10	6980,00	69,80	[18]
	М'ясний екстракт – 10	9424,00	94,24	[8]
	Дріжджовий екстракт – 5	2620,00	13,10	[9]
	Глюкоза – 10	130,00	1,30	[13]

Продовження табл. 2.2

	Пектиноза – 5	4267,00	21,335	[19]
	Цукроза – 5	3815,00	19,075	[20]
	$C_2H_3NaO_2$ – 15	193,60	2,904	[12]
	$Na_3C_6H_5O_7$ – 2	150,00	0,30	[21]
	$KH_2PO_4$ – 6	210,00	1,26	[22]
	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,58	82,00	0,04756	[15]
	$Mn(SO_4) \cdot 4H_2O$ – 0,25	57,60	0,0144	[16]
	$FeSO_4$ – 0,03	4,00	0,00012	[23]
	Твін 80 – 1	365,00	0,365	[14]
	Агар – 1,3	1320,00	1,72	[17]
<b>Вартість 1 л середовища – 225,46 грн.</b>				

З табл. 2.2 можемо зробити висновок, що меншу вартість на виробництві забезпечить культивування штаму *Lactobacillus plantarum* LLY-606. Слід зауважити, що *Lactobacillus plantarum* LLY-606 має набір властивостей, який включає: високі адгезивні властивості, антибіотикостійкість, стійкість до низьких значень рН. Рівень адгезивності для цього штаму за даними лабораторного дослідження дорівнює 5,8. Цей штам має стійкість до таких антибіотиків, як гентаміцин, канаміцин, тетрациклін, еритроміцин, кліндаміцин, хлорамфенікол, ванкоміцин та ампіцилін; при цьому має чутливість до стрептоміцину. Ферментує глюкозу, лактозу, сахарозу, крохмаль, маніт, декстрин, складний ефір гліцерину жирної кислоти, етиленгліколь, желатин, альбумін. Розробниками підтверджено, що вказаний штам знижує рівень норхолестеролів більш ніж в половину (64,49 %), має високі кислотостійкість та толерантність до жовчі, яка може зберігатися впродовж тривалого часу (відсоток виживання складає 77,29 %). *Lactobacillus fermentum* HAFI5007 відрізняється трохи вищим



для регулювання температури – спеціального кожуха (сорочки). Ферментер також має бути оснащений системою автоматичного контролю за реалізацією біосинтезу: датчиками вимірювання рівня рН, температури, тривалості.

Для реалізації технології запропоновано використання ферментера загальним об'ємом 1000 л (рис. 2.1).



Рисунок 2.1 – Загальний вигляд та схема ферментеру: 1 – кришка; 2 – корпус; 3 – вал; 4 – сорочка; 5 – перемішуючий пристрій; 6 – опора, 7 – привід

Для реалізації біосинтезу, культуральна рідина разом з поживним середовищем завантажується через вхідний привід (7). Перемішування відбувається за допомогою перемішуючого пристрою у вигляді турбінної мішалки (5). Крутний момент передається на вал (3) від електропривода. Підтримання необхідної температури відбувається за допомогою наявної сорочки ферментеру. Конструкція ферментера дозволяє монтаж систем автоматичного контролю та управління біотехнологічним процесом.

									Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата					

## 2.3 Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу, підготовка поживного середовища та параметри стерилізації

### 2.3.1 Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу

За виробничий цикл отримують  $V_{кр} = 746,8$  л культуральної рідини.

Отже, і виробничий біосинтез (без врахування втрат) здійснюють у ферментері з робочим (корисним) об'ємом  $V_{роб.1} = 746,8$  л.

Вважатимемо, що коефіцієнт заповнення ферментера складає  $K_{зап} = 0,75$ , відповідно повний об'єм ферментера становитиме:

$$V_{ф.1} = 746,8/0,75 = 995,7 \text{ л.}$$

Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний ферментер  $V_{сф} = 1000$  л та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт його заповнення:

$$K_{зап1} = \frac{V_{роб1}}{V_{сф}} = \frac{746,8}{1000} = 0,747 = 0,75$$

Кількість посівного матеріалу для ферментера складає 10% від об'єму середовища. Тоді кількість середовища становитиме:

$$V_{пс1} = \frac{V_{роб1}}{1+Xф} = \frac{746,8}{1+0,1} = 678,9 \text{ л}$$

де  $Xф$  – доза посівного матеріалу для ферментера.

Відповідно, кількість посівного матеріалу для ферментера становить:

$$V_{пм1} = V_{роб.1} - V_{пс1} = 746,8 - 678,9 = 67,9 \text{ л.}$$

Приймаємо кількість посівного матеріалу рівною 70 л.

### 2.3.2 Розрахунок кількості посівного матеріалу для вирощування культури в інокуляторі 100 л

Для одержання 70 л посівного матеріалу кількість поживного середовища та посівного матеріалу перед культивуванням в інокуляторі без урахування втрат становитиме теж 70 л.





### **2.3.4 Розрахунок кількості посівного матеріалу для вирощування культури в колбах на качалці**

Для одержання 0,7 л ( $V_{\text{пм4}}$ ) посівного матеріалу використовуємо дві колби Ерленмейера (конічна колба) об'ємом 750 мл. Зважаючи на відсутність інтенсивного перемішування при вирощування культури, в кожену колбу можемо додати 350 мл.

## **2.4 Обґрунтування способу приготування і стерилізації поживного середовища для одержання інокуляту і виробничого біосинтезу**

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

Вирощування посівного матеріалу та біосинтез Лактобактерину відбувається в середовищі такого складу (г/л):

Пептон – 10

М'ясний екстракт – 10

Дріжджовий екстракт – 5

$K_2HPO_4$  – 2

$C_6H_{17}N_3O_7$  – 2

$C_2H_3NaO_2$  -5

Глюкоза – 20

Твін-80 – 1

$MgSO_4 \cdot 7H_2O$  – 0,1

$MnSO_4 \cdot 4H_2O$  – 0,05

Агар – 1,75

Запропоноване середовище підтримує ріст лактобактерій.

Об'єм середовища, необхідний для вирощування посівного матеріалу в колбах, становить 0,7 л (700 мл). Стерилізація проходить в автоклаві.

					ДБП.ПЗ.162.07	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

Розділяємо поживне середовище на дві композиції. Такий розподіл обумовлює різні режими стерилізації компонентів поживного середовища. Слід також пам'ятати, що наявність у складі середовища дикалію фосфату ( $K_2HPO_4$ ) зумовлює необхідність підкислення середовища для запобігання утворення осаду.

За складом композиції:

**Композиція I:** пептон, м'ясний екстракт, дріжджовий екстракт, глюкоза, агар, Твін 80 – стерилізація за температури  $121\text{ }^\circ\text{C}$  впродовж 30 хв.

**Композиція II:**  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ;  $C_2H_3NaO_2$ ;  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ ;  $C_6H_{17}N_3O_7$ ,  $K_2HPO_4$  – стерилізація за температури  $131\text{ }^\circ\text{C}$  впродовж 40 хв.

### **Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування культури в посівному апараті об'ємом 10 л**

Об'єм середовища, необхідний для вирощування посівного матеріалу в посівному апараті, становить 7,3 л. Поживне середовище ділимо на такі композиції:

**Композиція I:** пептон, м'ясний екстракт, дріжджовий екстракт, глюкоза, агар, Твін 80 – стерилізація за температури  $121\text{ }^\circ\text{C}$  впродовж 30 хв.

**Композиція II:**  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ;  $C_2H_3NaO_2$ ;  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ ;  $C_6H_{17}N_3O_7$ ,  $K_2HPO_4$  – стерилізація за температури  $131\text{ }^\circ\text{C}$  впродовж 40 хв.

Для підтримки рН на рівні 6,5 використовують 6 % розчин хлороводневої кислоти (HCl).

### **Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування культури в інокуляторі об'ємом 100 л**

Об'єм середовища, необхідний для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі, становить 63,6 л. Поживне середовище ділимо на такі композиції:

										Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата						

ДБП.ПЗ.162.07

**Композиція I:** пептон, м'ясний екстракт, дріжджовий екстракт, глюкоза, агар, Твін 80 – стерилізація за температури 121 °С впродовж 30 хв.

**Композиція II:**  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ;  $C_2H_3NaO_2$ ;  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ ;  $C_6H_{17}N_3O_7$  ,  $K_2HPO_4$  – стерилізація за температури 131 °С впродовж 40 хв.

Для підтримки рН на рівні 6,5 використовують 6 % розчин хлороводневої кислоти (HCl).

**Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування культури в інокуляторі об'ємом 1000 л**

Об'єм середовища, необхідний для вирощування посівного матеріалу в інокуляторі, становить 678,9 л. Поживне середовище ділимо на такі композиції:

**Композиція I:** пептон, м'ясний екстракт, дріжджовий екстракт, глюкоза, агар, Твін 80 – стерилізація за температури 121 °С впродовж 30 хв.

**Композиція II:**  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ;  $C_2H_3NaO_2$ ;  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ ;  $C_6H_{17}N_3O_7$  ,  $K_2HPO_4$  – стерилізація за температури 131 °С впродовж 40 хв.

					ДБП.ПЗ.162.07	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

## РОЗДІЛ 3

### ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

#### 3.1 Таксономічний статус

*Lactobacillus plantarum* був вперше описаний у 1919 році Орла-Дженнсенсом, який назвав його *Streptobacterium plantarum*. Пізніше Педерсон (1936 р.) переводить їх у рід *Lactobacillus* [24].

Таксономічний статус вказує на місце організму в системі класифікації і пов'язаність з видами та родами. Загальною міжнародною є класифікація бактерій за Д. Х. Берджи. Згідно з посібником визначення бактерій Берджи:

Домен: *Bacteria*

Відділ: *Firmicutes*

Клас: *Bacilli*

Порядок: *Lactobacillales*

Родина: *Lactobacillaceae*

Рід: *Lactobacillus*

Вид: *Lactobacillus plantarum*

Штам: LLY-606

Штам збережений 5 квітня 2017 року у Центрі загальних мікроорганізмів адміністративного комітету КНР (Yard 1, BeiChen xi Road, Chaoyang District, Beijing City 3) під номером CGMCC №13984.

Відповідно до документації, штам стійкий до жовчі та кислоти; має здатність знижувати холестерин. Розробниками означена можливість використання *Lactobacillus plantarum* LLY-606 у продуктах харчування.

					ДБП.ПЗ.162.07			
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата				
Розробив		Горлатенко			РОЗДІЛ 3 ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА	Літ.	Аркуш	Аркушів
Перевірив		Охмат О.А.						
Н.Контр.								
Затвердив								
						КНУТД, гр. ББТск-20		

Штам має адгезивні властивості та стійкість до антибіотиків: гентаміцину, канаміцину, тетрацикліну, еритроміцину, кліндаміцину, хлорамфеніколу, ванкоміцину, ампіциліну.

### 3.2 Морфологічно-культуральні властивості

*Lactobacillus plantarum* LLY-606 – грам позитивні нерухомі бактерії, здебільшого у формі коротких паличок. Можуть також мати циліндричну чи розгалужену форму, утворюючи як окремі або парні клітини, так і ланцюги. Розміри залежать від ряду факторів: складу поживного середовища, температурного режиму, віку та умов зберігання культури. Зазвичай мають довжину від 1,5 до 4 мкм і ширину від 0,5 до 0,8 мкм. Колонії можуть мати білий, кремовий або жовтуватий колір. Загальний вигляд *Lactobacillus plantarum* під мікроскопом представлені на рис. 3.1.

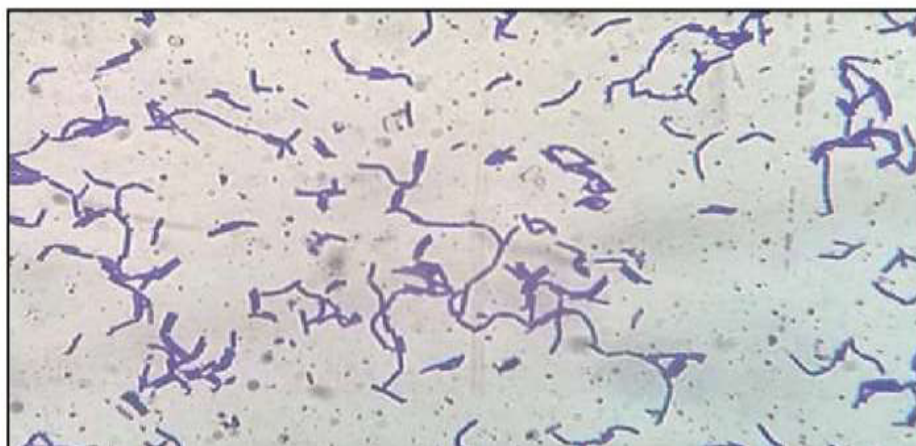


Рисунок 3.1 – *Lactobacillus plantarum* під мікроскопом

*Lactobacillus plantarum* LLY-606 може утворювати округлі або неправильно-округлі колонії з гладкою чи зубчастою поверхнею.

Традиційним для вирощування *Lactobacillus plantarum* є поживне середовище МРС [25]. *Lactobacillus plantarum* може рости на поживних середовищах, таких як агар або бульйони, що містять поживні речовини для цих бактерій. Вони зазвичай виявляють аеротолерантність, тобто можуть

									Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата					

ДБП.ПЗ.162.07

рости як в наявності кисню, так і без нього. Зазвичай вони виробляють кислоту в процесі ферментації, що сприяє зниженню рН.

### 3.3 Фізіолого-біохімічні ознаки

*Lactobacillus plantarum* LLY-606 є факультативним анаеробом.

Температурний діапазон для культивування штаму складає 20 – 45 °С. Оптимальна температура для росту 37 °С. Штам *Lactobacillus plantarum* LLY-606 може бути здатним до росту та ферментації при різних рівнях рН, але найоптимальнішим значенням рН для культивування *Lactobacillus plantarum* LLY-606 є 6,4– 6,5.

*Lactobacillus plantarum* LLY-606, як і інші штами *Lactobacillus plantarum*, володіє здатністю до ферментування вуглеводів, зокрема глюкози, мальтози, лактози та інших цукрів.

					ДБП.ПЗ.162.07	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

## РОЗДІЛ 4

### ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

#### 4.1 Поетапна блок-схема технології

Технологічну схему можна поділити на три частини:

1) **допоміжні роботи (ДР)**, до яких відносять:

- санітарну підготовку персоналу (підготовка одягу, перевірка санітарного стану персоналу, навчання основам гігієни та санітарії);
- підготовку приміщень (готування мийних та дезінфікуючих речовин, щоденне та генеральне прибирання виробничих приміщень);
- підготовку обладнання та комунікацій ( підготовка розчинів мийних та дезінфікуючих речовин для оброблення обладнання та комунікацій, миття, дезінфекції, ополіскування, стерилізації тощо).

2) **стадія основного технологічного процесу (ТП)**, до якої відносять:

- підготовку посівного матеріалу;
- проведення виробничого біосинтезу.

3) **стадія знешкодження відходів (ЗВ)**, до якої відносять:

- знешкодження рідких відходів;
- знешкодження твердих відходів;
- знешкодження повітряних відходів.

Поетапна блок-схема технології представлена у графічній частині дипломного проекту.

					<i>ДБП.ПЗ.162.07</i>			
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата				
Розробив		Горлатенко Є.С			РОЗДІЛ 4 ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	Літ.	Аркуш	Аркушів
Перевірив		Охмат О.А.						
Н.Контр.					КНУТД, гр. ББТск-20			
Затвердив								

## 4.2 Опис технологічної схеми

Технологічна схема передбачає:

- 1) допоміжні роботи (ДР),
- 2) технологічний процес (ТП),
- 3) стадію знешкодження відходів (ЗВ).

### ДР 1 Санітарна підготовка виробництва

Проведення санітарної підготовки є обов'язковою частиною з підготовчих робіт на виробництві, оскільки вона впливає на безпечність умов праці та забезпечення мінімальної кількості контамінатів у складових виробничого процесу.

#### *ДР 1.1 Підготовка персоналу*

Підготовка виробничого персоналу здійснюється за регламентом, затвердженим на підприємстві.

Кожна людина при прийомі на роботу повинна пройти обов'язковий медогляд, оскільки працівники будуть мати доступ до виробничих та складських зон підприємства.

Кожне підприємство повинно забезпечувати навчання персоналу за видами:

- основне (до якого відносять і первинне навчання): персонал ознайомлюють з основами виробництва, як з теоретичною, так і з практичною частиною;
- вхідне: проводиться, коли наймають на певну посаду нового співробітника, або ж переводять співробітника з одного процесу на інший;
- подальше: навчання проводиться за необхідністю при появі будь-яких змін у регламенті роботи.

Перед початком робочої зміни кожного працівника необхідно оглядати на наявність будь-яких запалень на шкірі, оскільки вони можуть мати

									Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата					

ДБП.ПЗ.162.07



вірусний характер та нашкодити виробництву. Працівники з ознаками інфекційних захворювань до роботи не допускаються.

Санітарно-гігієнічна підготовка персоналу перед зміною передбачає: обробку рук мильним засобом та антисептиком, переодягання у спеціальний одяг у відведеній для цього кімнаті. Спецодяг при цьому має бути пошитий з безворсової тканини.

## **ДР 1.2 Приготування мийних та дезінфікуючих засобів**

Підготовка мийних та дезінфікуючих розчинів необхідна для подальшого миття і обробки виробничих приміщень, обладнання та комунікацій. Дезінфікуючі засоби підлягають заміні раз на 3 місяці для уникнення розвитку можливої резистентності штаму мікроорганізму до засобу певного виду.

*ДР 1.2.1 Приготування робочого дезінфікуючого розчину на основі засобу «Дезактін» для щоденного прибирання*

Дезактін (ТУ У 20.2-22920528-017: 2013) – порошок, призначений для дезінфекції та очищення усіх видів поверхонь (стіни та підлога приміщень, меблі, прилади, інвентар, посуд, санітарно-технічне обладнання). Препарат має широкий спектр антимікробної активності: бактерицидні, віруліцидні (включаючи парентеріальні вірусні гепатити, ВІЛ-інфекцію, рота-, паповавіруси), фунгіцидні (в т.ч. гриби роду *Candida*) властивості. Вміст активного хлору у Дезактині складає 14,0 %.

У лабораторному приміщенні у емальованій ємкості об'ємом 10 л готують робочий розчин Дезактину, концентрацією 0,2 %. Для цього розчиняють 20 грам Дезактину у 10 л води. Додатково можна додати 50 грам мильного засобу (за необхідності) [26].

Термін зберігання робочих розчинів – до 24 годин.

Порожню тару від використаного засобу направляють на етап знешкодження твердих відходів (до ЗВ 6.2).

										Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата						

ДБП.ПЗ.162.07

*ДР 1.2.2 Приготування робочого дезінфікуючого розчину на основі засобу «Дезактін» для генерального прибирання*

У лабораторному приміщенні у емальованій ємності об'ємом 10 л готують робочий розчин Дезактіну, концентрацією 0,5 % (або 1,0 %). Для цього розчиняють 50 (або 100) грам Дезактіну у 10 л води.

Термін зберігання робочих розчинів – до 24 годин.

Порожню тару від використаного засобу направляють на етап знешкодження твердих відходів (до ЗВ 6.2).

*ДР 1.2.3. Приготування мийного розчину каустичної соди*

Гідроксид натрію (NaOH) – універсальний дезінфектант є сильним лугом, який часто використовується для миття та очищення обладнання. Для миття обладнання з нержавіючої сталі будемо використовувати 2 % розчин гідроксиду натрію. Для приготування якого 20 г гідроксиду натрію розчиняють у 1000 мл води при перемішуванні.

Порожню тару від використаного засобу направляють на етап знешкодження твердих відходів (до ЗВ 6.2).

**ДР 1.3 Підготовка виробничих приміщень**

*ДР1.3.1 Щоденне прибирання*

Щоденне прибирання здійснюють один раз на зміну.

До щоденного прибирання відносять миття підлоги, вологе прибирання проводять після кожного закінчення зміни. Обробка здійснюється зрошенням або протиранням поверхонь губкою, змоченою у робочому розчині дезінфікуючого засобу (від ДР 1.2.1). Норма витрати засобу складає 100 мл на 1 кв. м оброблюваної площі.

Обробку розчином здійснюють у виробничих, лабораторних, підсобних і побутових приміщеннях. Обробку приміщень виконують за принципом «зверху вниз» – 1,5 м від підлоги, потім підлогу, рухаючись поступово до

									Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата	ДБП.ПЗ.162.07				

виходу. Також протирають пил на столі та ззовні обладнання. Після дезінфекції поверхні промивають проточною водою.

Після використання розчини та воду направляють на етап знешкодження рідких відходів (до ЗВ 6.1).

#### *ДР 1.3.2 Генеральне прибирання виробничих приміщень*

Генеральне прибирання здійснюють один раз на місяць.

Крім миття підлоги дезінфікуючим розчином (від ДР 1.2.2) також обробляють вікна, стіни, двері та стелю. Після закінчення обробки дезінфікуючим розчином приміщення закривається на 30 хвилин, після чого все обробляють наново чистою проточною водою.

Після використання розчини та воду направляють на етап знешкодження рідких відходів (до ЗВ 6.1).

#### **ДР 1.4 Підготовка обладнання**

Технічний огляд апаратури проводять після миття та перед запуском процесу аби з метою виявлення наявності дефектів або несправності. До підготовки обладнання відносять: технічний огляд, перевірку на герметичність, пробний пуск, настройку параметрів здійснення технологічного процесу.

#### *ДР1.4.1 Миття обладнання*

Для миття обладнання та комунікацій розчином каустичної соди ( від ДР 1.2.3) заповнюємо обладнання на 30 % та вмикаємо перемішувачий пристрій на годину. Для очищення від залишків засобу обладнання на 50 % об'єму заповнюють водою і вмикають перемішувальний пристрій ще на 30 хвилин. Температура миття обладнання 25–35 °С.

Після використання розчини та воду направляють на етап знешкодження рідких відходів (до ЗВ 6.1).

									Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата					

ДБП.ПЗ.162.07

#### *ДР 1.4.2 Технічний огляд*

Після процесу миття обладнання проводять його технічний огляд з метою виявлення наявності пошкоджень, вм'ятин, в яких можуть залишатись залишки можливого забруднення, що може призвести до перехресної контамінації. Всі знайдені пошкодження фіксують.

#### *ДР1.4.3 Перевірка на герметичність*

Для перевірки на герметичність закривають усю можливу арматуру. Подаючи повітря до створення надлишкового тиску у 0,1–0,2 МПа перекривають прохід повітря та фіксують у журналі показники тиску впродовж 40–60 хвилин. У випадку зниження тиску впродовж вказаного інтервалу часу менше 0,01 МПа роблять висновок, що апарат є герметичним. Якщо тиск падає більше ніж на 0,01 МПа знаходять місце розгерметизації методом омилення апарату. Для реалізації методу на місця з'єднань в конструкції ферментера наносять мильний розчин та чекають 30–40 хвилин. Після чого візуально визначають появу невеликих бульбашок у місцях розгерметизації обладнання. При виявленні розгерметизації з'єднувальну арматуру затягують або змінюють прокладки. Після чого повторюють перевірку на герметичність. Використане повітря направляють до ЗВ 6.3.

#### *ДР 1.4.4 Стерилізація обладнання*

Перед початком стерилізації ферментер прогривають через сорочку глухою парою, нагріваючи апарат до температури 80–90°C. Відкривають усю запірну арматуру на відкритих трубних закінченнях та підведених до апарата комунікаціях і подають гостру пару безпосередньо у ферментер. При досягненні температури стерилізації в 130–135 °С всю запірну арматуру, крім парової, закривають і витримують впродовж 1 години. Після чого парову арматуру закривають, а в сорочку подають холодну воду. Процес охолодження здійснюють до досягнення температури 30–40°C і надлишкового тиску  $P = 0,003–0,005$  МПа.

										Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата						

ДБП.ПЗ.162.07

## **ДР 2 Приготування та зберігання титрувальних агентів**

### *ДР 2.1 Приготування 6 % розчину хлоридної кислоти*

Для приготування 100 л 6 % розчину HCl у мірник об'ємом 100 л, вносять 80 л води, обережно додають 6 кг хлоридної кислоти (в перерахунку на активність кислоти) і доводять розчин дистильованою водою до заданого об'єму (100 л).

Приготований розчин зберігають 6 днів за температури 20–25 °С.

### *ДР 2.1 Приготування 5 % розчину гідроксиду амонію*

Для приготування 10 л 5 % розчину гідроксиду амонію у мірнику об'ємом 10 л розчиняють 500 гр гідроксиду амонію у дистильованій воді.

Приготований розчин зберігають 2 дні у щільно закритому мірнику за температури 20–25 °С.

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

*ДР 3.1 Приготування поживного середовища для одержання інокуляту в посівному апараті об'ємом 10 л*

Для одержання посівного матеріалу на даному етапі необхідно приготувати 7,3 л поживного середовища. Вміст компонентів для приготування 7,3 л поживного середовища наведено в табл. 3.1.

Для засіву поживного середовища в інокуляторі необхідно внести 700 мл рідкого посівного матеріалу, тому сумарна кількість води для композицій становить 6,6 л.

					ДБП.ПЗ.162.07	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

**Таблиця 3.1 – Розрахунок вмісту компонентів  
для приготування 7,3 л середовища**

Компонент поживного середовища	Концентрація, г/л	Вміст компонента у 7,3 л середовища, г	Композиція	Об'єм композиції, л
Пептон	10	73	I	4,5
М'ясний екстракт	10	73		
Дріжджовий екстракт	5	36,5		
Глюкоза	20	146		
Твін–80	1	7,3		
Агар	1,75	12,78		
$K_2HPO_4$	2	14,6	II	2,1
$C_6H_{17}N_3O_7$	2	14,6		
$C_2H_3NaO_2$	5	36,5		
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,1	0,73		
$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	0,05	0,365		

*ДР 3.1.1 Приготування і стерилізація композиції I*

На аналітичних вагах зважують по 73 грам пептону та м'ясного екстракту, додають 36,5 грам дріжджового екстракту, 146г глюкози, 7,3 Твін–80 та 12,78 грам агару. Наважки поміщають у колбу 5л, додають дистильовану воду до об'єму 4,5 л і перемішують вміст колби до повного розчинення. Отриманий розчин розливають по 2,25 літри в дві колби об'ємом 5 л. Кожну колбу закривають ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві за температури 121°C упродовж 30 хв. Після стерилізації, колби охолоджують до 40 °С, зливають в одну колбу у стерильних умовах.

					ДБП.ПЗ.162.07	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

### *ДР 3.1.2 Приготування і стерилізація композиції II*

На аналітичних вагах зважують по 14,6 г  $K_2HPO_4$ , та  $C_6H_{17}N_3O_7$ , 36,5 г  $C_2H_3NaO_2$ , 0,73г  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  та 0,365г  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ . Наважки поміщають у колбу ємністю 5 л, додають дистильовану воду до об'єму 2,1 л. Для запобігання утворенню нерозчинних фосфатів магнію корегують рівень рН, знижуючи його розчином хлоридної кислоти (від ДР 2.1) до значення 4,0-4,5, і перемішують вміст колби до повного розчинення. Колбу закривають ватно-марлевою пробкою і стерилізують в автоклаві за температурі 131°C упродовж 40 хв. Після стерилізації, колбу охолоджують до 40 °С.

У стерильних умовах композицію I (від ДР 3.1.1) змішують з композицією II (від ДР 3.1.2) і передають на стадію вирощування до ТП 4.4.

*ДР 3.2 Приготування поживного середовища для одержання інокуляту в посівному апараті об'ємом 100 л*

Для одержання посівного матеріалу на даному етапі необхідно приготувати 63,6 л поживного середовища. Вміст компонентів для приготування 63,6 л поживного середовища наведено в табл. 3.2. Для засіву поживного середовища у ферментері необхідно внести 6,4 л рідкого інокуляту, тому сумарна кількість води для композиції становить 57,2 л.

**Таблиця 3.2 – Розрахунок вмісту компонентів  
для приготування 63,6 л середовища**

Компонент поживного середовища	Концентрація, г/л	Вміст компонента у 63,6 л середовища, г	Композиція	Об'єм композиції, л
Пептон	10	636	I	44,0
М'ясний екстракт	10	636		
Дріжджовий екстракт	5	318		

Продовження табл. 3.2

Глюкоза	20	1272		
Твін 80	1	63,6		
Агар	1,75	111,3		
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2	127,2	II	13,2
C <sub>6</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>7</sub>	2	127,2		
C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> NaO <sub>2</sub>	5	318		
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,1	6,36		
MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub>	0,05	3,18		

*ДР 3.2.1 Приготування і стерилізація композиції I*

На аналітичних вагах зважують по 636 грамів пептону та м'ясного екстракту та додаємо 318 грамів дріжджового екстракту, 1272 г глюкози, 63,6 г Твін-80 та 111,3 г агару. Наважки поміщають у збірник об'ємом 60 л. У цей же збірник за допомогою об'ємно-вагового дозатора вносять 44 л питної води. Для повного розчинення компонентів збірник нагрівають для досягнення температури розчину 30°C, увімкнувши перемішувачий пристрій. Стерилізація композиції відбувається в збірнику за температури 121 °C упродовж 30 хв. Після стерилізації, композицію охолоджують до 40 °C.

*ДР 3.2.2 Приготування і стерилізація композиції II*

На технічних вагах зважують по 127,2 г K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, та C<sub>6</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>, 318 г C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>NaO<sub>2</sub>, 6,36 г MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O та 3,18 г MnSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>. Наважки поміщають у збірник об'ємом 60 л. У цей же збірник за допомогою об'ємно-вагового дозатора вносять 13,2 л питної води. Для запобігання утворенню нерозчинних фосфатів магнію корегують рівень рН, знижуючи його розчином хлоридної кислоти (від ДР 2.1) до значення 4,0-4,5. Для повного розчинення компонентів збірник нагрівають для досягнення температури розчину 30°C, увімкнувши перемішувачий пристрій. Стерилізація композиції

									Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата					

ДБП.ПЗ.162.07



відбувається в збірнику за температури 131 °С упродовж 40 хв. Після стерилізації, композицію охолоджують до 40 °С.

У стерильних умовах композицію I (від ДР 3.2.1) змішують з композицією II (від ДР 3.2.2) і передають на стадію вирощування до ТП 4.5.

*ДР 3.3 Приготування поживного середовища для одержання інокуляту в посівному апараті об'ємом 1000 л*

Для одержання посівного матеріалу на даному етапі необхідно приготувати 678,9 л поживного середовища. Вміст компонентів для приготування 678,9 л поживного середовища наведено в табл. 3.3.

Для засіву поживного середовища у ферментері необхідно внести 67,9 л рідкого інокуляту, тому сумарна кількість води для композиції становить 611 л.

**Таблиця 3.3 – Розрахунок вмісту компонентів для приготування 678,9 л середовища**

Компонент поживного середовища	Концентрація, г/л	Вміст компонента у 678,9 л середовища, г	Композиція	Об'єм композиції, л
Пептон	10	6789	I	458,2
М'ясний екстракт	10	6789		
Дріжджовий екстракт	5	3394,5		
Глюкоза	20	13578		
Твін 80	1	678,9		
Агар	1,75	1188,075		
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2	1357,8	II	152,8

Продовження табл. 3.3

$C_6H_{17}N_3O_7$	2	1357,8		
$C_2H_3NaO_2$	5	3394,5		
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,1	67,89		
$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	0,05	33,945		

*ДР 3.3.1 Приготування і стерилізація композиції I*

За допомогою об'ємно-вагового дозатора зважують по 6789 грам пептону та м'ясного екстракту, додають 3394,5 грам дріжджового екстракту, 13578 г глюкози, 1188,075 г агару, 678,9 г Твіну-80. Наважки поміщають у реактор об'ємом 1000 л. За допомогою лічильника додають 458,2 л води і перемішують. Стерилізація композиції відбувається в реакторі за температури 121 °С упродовж 30 хв. Після стерилізації, композицію охолоджують до 40 °С.

*ДР 3.3.2 Приготування і стерилізація композиції II*

За допомогою вагового дозатора зважуємо по 1357,8 г  $K_2HPO_4$ , та  $C_6H_{17}N_3O_7$ , 3394,5 г  $C_2H_3NaO_2$ , 67,89 г  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  та 33,945 г  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$

Наважки поміщають у реактор об'ємом 1000 л. За допомогою лічильника додають 152,8 л очищеної води і перемішують. Для запобігання утворенню нерозчинних фосфатів магнію корегують рівень рН, знижуючи його розчином хлоридної кислоти (від ДР 2.1) до значення 4,0-4,5. Стерилізація композиції відбувається у реакторі за температури 131 °С упродовж 40 хв. Після стерилізації, композицію охолоджують до 40 °С.

У стерильних умовах композицію I (від ДР 3.3.1) змішують з композицією II (від ДР 3.3.2) і передають на стадію вирощування до ТП 5.

											Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата							

ДБП.ПЗ.162.07

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

##### *ТП 4.1 Зберігання ліофілізованої робочої культури *Lactobacillus plantarum* LLY-606*

Ліофільно висушену колекційну культуру зберігаються в холодильній камері за температури  $-18^{\circ}\text{C}$  (до ТП 4.2).

##### *ТП 4.2 Одержання культури I генерації*

Робочу культуру штаму отримують пробудженням колекційної культури (від ТП 4.1) в пробірці глибинним способом на середовищі МРС.

В пробірку до 1 дози ліофільно висушених мікроорганізмів додають 2 мл фізичного розчину і ретельно перемішують. Стерильно у 2 пробірки вносять мікропіпеткою по 1 мл емульсії до 9 мл стандартного поживного середовища МРС. Пробірки витримують за температури  $37^{\circ}\text{C}$  12 год., отримуючи культуру I генерації (до ТП 4.3).

##### *ТП 4.3 Одержання культури II генерації*

Вміст двох пробірок стерильно переносять у 2 качалочні колби (з розрахунку одна пробірка–одна колба) об'ємом 750 мл, в кожную з яких попередньо стерильно додано по 350 мл стандартного поживного середовища МРС. Колби закривають ватно-марлевою пробкою і культивують в термостаті за температури  $37^{\circ}\text{C}$ , впродовж 48 годин, отримуючи культуру II генерації.

Вміст двох колб зливають в одну у стерильних умовах (до ТП 4.4).

##### *ТП 4.4 Одержання культури III генерації*

Підготовлене поживне середовище – суміш композиції I (від ДР 3.1.1) та композиції II (від ДР 3.1.2) з колби стерильно вносять в інокулятор об'ємом 10 л. До поживного середовища додають культуру II генерації (від ТП 4.3). Після нетривалого перемішування проводять культивування за температури  $37^{\circ}\text{C}$ , впродовж 48 годин, отримуючи культуру III генерації (до ТП 4.5).

										Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата						

ДБП.ПЗ.162.07

#### *ТП 4.5 Одержання культури IV генерації*

Підготовлене поживне середовище – суміш композиції I (від ДР 3.2.1) та композиції II (від ДР 3.2.2) стерильно закачують в інокулятор об'ємом 100 л. Змішаний розчин переносять в інокулятор. До поживного середовища самопливом додають культуру III генерації (від ТП 4.4). За необхідності, під час культивування регулюють рівень рН в межах 6,45-6,5 (від ДР 2.2). На початку культивування включають перемішувальний пристрій на низьких обертах та нагрівальний елемент. Культивування здійснюють за температури 37 °С упродовж 36 годин, отримуючи культуру IV генерації (до ТП 5).

#### **ТП 5. Біосинтез**

Підготовлене поживне середовище – суміш композиції I (від ДР 3.3.1) та композиції II (від ДР 3.3.2) стерильно закачують у ферментер об'ємом 1000 л. Потім за допомогою стисненого повітря по трубопроводу перетискуванням з інокулятора перекачують посівний матеріал (від ТП 4.5). За необхідності, під час культивування регулюють рівень рН в межах 6,45-6,5 (від ДР 2.2). Включають перемішувальний пристрій, в сорочку ферментера подають пару. Культивування здійснюють за температури 37°C впродовж 24 год. Кожні 4 години відбирають пробу культуральної рідини для проведення мікробіологічного контролю та визначення концентрації біомаси.

#### **ЗВ 6 Знешкодження відходів**

##### *ЗВ 6.1 Знешкодження рідких відходів*

Рідкі відходи (від ДР 1.3.1, ДР 1.3.2, ДР 1.4.1) очищують в окситенках.

##### *ЗВ 6.2 Знешкодження твердих відходів*

Тверді відходи (відбракована або використана пакувальна тара для мийних та дезінфікуючих засобів від ДР 1.2.1, ДР 1.2.2, ДР 1.2.3), відправляють до пунктів прийому вторинної сировини.

##### *ЗВ 6.3 Знешкодження повітряних відходів*

Знешкоджують відходи від ДР 1.4.3, ДР 1.4.4.

									Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата					

## РОЗДІЛ 5 КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

### 5.1 Мікробіологічна чистота культури

Мікробіологічний контроль є обов'язковою частиною контролю за якістю та безпечністю продукції, під час її підготовки. Він здійснюється на таких етапах: після стерилізації компонентів та середовищ, під час підготовки посівного матеріалу та під час самого процесу біосинтезу.

У культуральній рідині не повинно бути сторонніх мікроорганізмів, плісняви та грибів. Здійснюється цей контроль розсівом на чашки Петрі з агаризованим середовищем і подальшим мікроскопіюванням на світловому мікроскопі. Культуральну рідину розсівають на чашки Петрі, за допомогою петлі методом виснажувальних штрихів, до ізольованих колоній. Посів здійснюють на чашки Петрі з такими агаризованими середовищами:

- м'ясо-пептонний агар (МПА) для виявлення бактерій;
- сусло-агар (СА), що використовують для виявлення дріжджів та грибів, які найчастіше становлять основу сторонніх організмів.

Також додатково роблять розсів на середовище Блаурока для виявлення сторонніх молочнокислих бактерій, зокрема, сторонніх бактерій.

Мікроскопіювання ж здійснюють з використанням препаратів «роздавлена крапля». Для цього на попередньо знежирене скло наносять краплину культуральної рідини, накривши накривним скельцем підносять під мікроскоп та роздивляються з об'єктивом 40x без імерсійної системи та 90x з імерсійною системою. Наявність клітин, які будуть відрізнятися свідчить про наявність сторонньої мікробіоти.

					<i>ДБП.ПЗ.162.07</i>			
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата				
Розробив		Горлатенко Є.С			РОЗДІЛ 5 КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ	Літ.	Аркуш	Аркушів
Перевірив		Охмат О.А.						
Н.Контр.					<i>КНУТД, гр. ББТск-20</i>			
Затвердив								

Як ми вже згадували, характерними особливостями колоній нашого штаму є білий, кремовий або жовтуватий колір, здебільшого у формі коротких паличок (можуть мати циліндричну або розгалужену форму). Можуть утворювати як окремі або парні клітини, так і ланцюги.

Перед самим мікроскопіюванням препарату необхідно провести фарбування за Грамом. Для цього скло з препаратом беремо пінцетом і робимо 2-3 плавних рухи над верхньою частиною полум'я пальника. Весь процес фіксації не повинен займати більше 2 секунд. Після чого, на цей фіксований мазок накладаємо фільтрувальний папір та крапаємо один з основних барвників: генціанвіолет або метиленовий синій. Чекаємо 2-3 хвилини, знімаємо фільтрувальний папір та зливаємо залишки фарби. Після цього ми наносимо розчин Люголю до потемніння (це займає 1-2 хвилини) після чого зливаємо та починаємо промивати 96 % етиловим спиртом. Промивання спиртом проводиться таким способом: крапаємо декілька крапель спирту, залишаємо на 20 секунд і потім змиваємо, цю процедуру проводимо 2-3 рази, до повного знебарвлення мазка. Промиваємо наш зразок дистильованою водою та крапаємо ще додатково розчин фуксину на 1-2 хвилини, який використовується для виявлення грамнегативних бактерій. Знову промиваємо водою, просушуємо та мікроскопіюємо. Грампозитивні бактерії фарбуються у фіолетовий колір, і грамнегативні – у червоний

## 5.2 Визначення концентрації біомаси

Для дослідження використовуємо нефелометричний метод, для кого пробу культуральної рідини перемішують, піпеткою вносять у кювету об'ємом 5 мл, вимірюють оптичну густина на спектрофотометрі за довжини хвилі 540 нм. За контрольний зразок взято попередньо відібране перед культивуванням поживне середовища. Для контрольного зразка проводять вимірювання оптичної густини за вище вказаних параметрів. Кількість

									Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата					

ДБП.ПЗ.162.07

біомаси визначають як різницю між оптичною густиною для культуральної рідини та поживного середовища.

Визначення біомаси можна провести і ваговим методом. Який включає: відбір точного об'єму культуральної рідини, відділення біомаси центрифугуванням, відмивання, центрифугування, висушування у доведеному до постійної маси бюксі у сушильній шафі.

### **5.3 Визначення кількості живих лактобактерій**

Метод Коха – це метод визначення кількості життєздатних пробіотичних мікроорганізмів, в нашому випадку, молочнокислих бактерій. Цей метод заснований на посіві фіксованої кількості культуральної рідини на чашки Петрі, що містить концентроване живильне середовище. Для цього готують кілька розведень для одержання окремих колоній і правильного підрахунку. Розведення готують в ізотонічному розчині 0,85 % хлориду натрію. 9 мл розчину хлориду натрію і 1 мл попереднього розведення в наступну пробірку і повторіть цю процедуру. Потім продовжують приготування подальших розведень.

Починаємо інкубувати протягом 48 годин, при температурі 37°C, після якої підраховали колонії, що вирости на поверхні середовища, та підраховуємо число живих лактобактерій, які виражаємо в КУО в 1 г препарату. В нашому випадку це  $1 \cdot 10^{10}$  КУО/г.

### **5.4 Контроль пробіотичних властивостей**

#### **5.4.1 Перевірка чутливості до антибіотиків**

Перевіряємо чутливість до серії антибіотиків: гентаміцин, канаміцин, стрептоміцин, тетрациклін, еритроміцин, кліндаміцин, хлорамфенікол, ампіцилін та ванкоміцин. Аналіз проводимо для концентрацій, мкг/мл,

					ДБП.ПЗ.162.07	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		





## ВИСНОВКИ

1. У проєкті вивчено основні властивості цільового продукту – препарату Лактобактерину. Визначено сфери його застосування, форми випуску, способи та дози прийому.

2. Проведено порівняльний аналіз ефективності використання штамів *Lactobacillus plantarum* LLY-606 та *Lactobacillus fermentum* HAFI5007 для отримання біомаси Лактобактерину, в результаті якого визначена доцільність культивування штаму *Lactobacillus plantarum* LLY-606. Вибір обґрунтовано не тільки набором властивостей штаму, але і економічною складовою порівняння – меншою (на 42,2 %) вартістю використовуваного для культивування поживного середовища.

3. Проведено розрахунок потужності підприємства для виробництва біомаси Лактобактерину з урахуванням потреб 1 % населення України.

4. Обґрунтовано схему виробництва біомаси Лактобактерину, яка включає допоміжні роботи, стадію основного технологічного процесу та стадію знешкодження відходів. Розроблено поетапну блок-схему проєктної технології.

5. Обґрунтовано методи контролю на виробництві, які включають мікробіологічний контроль, контроль концентрації біомаси та кількості живих лактобактерій. Наведено методики визначення пробіотичних властивостей.

					ДБП.ПЗ.162.07		
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата			
Розробив	Горлатенко Є.С				Літ.	Аркуш	Аркушів
Перевірив	Охмат О.А.				Д		
Н.Контр.					КНУТД, гр. ББТск-20		
Затвердив					ВИСНОВКИ		

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. АТС-класифікація. Довідник лікарських препаратів. URL: <https://compendium.com.ua/uk/atc/> (дата звернення: 10.05.2023).
2. Ліки контроль. URL: <https://likicontrol.com.ua/> (дата звернення: 10.05.23).
3. Enzipharm. URL: <https://enzipharm.com/> (дата звернення: 10.05.23).
4. Центр громадського здоров'я України URL: <https://www.facebook.com/phc.org.ua/posts/2088529064605144> (дата звернення: 13.05.23).
5. One *Lactobacillus plantarum* LLY 606 and its application : пат CN107287133A КНР; заявл. 2017.06.26; опубл. 2017.10.24.
6. *Lactobacillus fermentum* and application thereof : пат CN102226157В КНР; заявл. 2011.05.06; опубл. 2013.01.09.
7. Repton fermentativnij. URL: <https://prom.ua/ua/p1354347103-pepton-fermentativnij-kitaj.html> (дата звернення: 18.05.23).
8. Поживні середовища. URL: <http://lab-mir.com/index.php/%D0%BA%D0%B0%D1%82%D0%B0%D0%BB%D0%BE%D0%B3/%D0%BF%D0%B8%D1%82%D0%B0%D1%82%D0%B5%D0%BB%D1%8C%D0%BD%D1%8B%D0%B5-%D1%81%D1%80%D0%B5%D0%B4%D1%8B/%D0%BF%D0%B8%D1%82%D0%B0%D1%82%D0%B5%D0%BB%D1%8C%D0%BD%D1%8B%D0%B5-%D1%81%D1%80%D0%B5%D0%B4%D1%8B-%D0%BF%D1%80-%D0%B2%D0%B0-%D0%B8%D0%BD%D0%B4%D0%B8%D1%8F/36667-detail.html> (дата звернення: 18.05.2023).

					ДБП.ПЗ.162.07			
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата				
Розробив		Горлатенко Є.С			СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	Літ.	Аркуш	Аркушів
Перевірив		Охмат О.А.				Д		
Н.Контр.					КНУТД, гр. ББТск-20			
Затвердив								





## Додаток А



## Додаток Б

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
Державний біотехнологічний університет  
Рейн-Вальський університет прикладних наук, Німеччина  
Університет аграрних наук, м. Упсала, Швеція  
Природничий дослідницький центр, м. Вільнюс, Литва  
Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна  
Національний аерокосмічний університет ім. М.С. Жуковського  
«Харківський авіаційний інститут»  
Львівський національний університет ветеринарної  
медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжизького  
КЗ «Харківський зоологічний парк»

## АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ БІОТЕХНОЛОГІЇ, ЕКОЛОГІЇ ТА ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ

МАТЕРІАЛИ МІЖНАРОДНОЇ НАУКОВОЇ КОНФЕРЕНЦІЇ

*27-28 квітня 2023 р.*

Харків  
ДБТУ  
2023

*Актуальні питання біотехнології, екології та природокористування, 2023.*

для поверхнево-активних речовин, одержаних без індуктора (10-75 і 75-330 мкг/мл відповідно).

Максимальний ступінь деструкції біоплівки *S. aureus* БМС-1 та *Pseudomonas* sp. МІ-2 після обробки розчинами ПАР *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017, синтезованих за наявності живих клітин індуктора, становив 80-83%, у той час як під впливом ПАР, утворених без індукторів, ступінь руйнування біоплівки не перевищував 64%.

У разі внесення *S. cerevisiae* БТМ-1 у середовище культивування *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 спостерігали синтез ПАР, за дії яких деструкція біоплівки *E. coli* ІЕМ-1 та *B. subtilis* БТ-2 становила 51-97 і 25-75%, а під впливом поверхнево-активних речовин, утворених у середовищі без індуктора, всього 20-83 та 19-69% відповідно.

Схожі закономірності були виявлені і під час дослідження біологічної активності ПАР щодо дріжджів *C. albicans* Д-6, *C. utilis* БВС-65 та *S. cerevisiae* БТМ-1. Мінімальні інгібуючі концентрації щодо дріжджових тест-культур поверхнево-активних речовин, синтезованих за наявності *S. cerevisiae* БТМ-1, були на один-два порядки нижчими за показники, встановлені для ПАР, одержаних без індуктора (1,25-10 і 37,5-300 мкг/мл відповідно).

Ступінь деструкції біоплівки *C. albicans* Д-6, *C. utilis* БВС-65 та *S. cerevisiae* БТМ-1 досягав 66-72% за дії ПАР, одержаних за наявності в середовищі культивування живих клітин *S. cerevisiae* БТМ-1, що на 17-21% вище порівняно з впливом поверхнево-активних речовин, синтезованих за відсутності індуктора.

Отже, у результаті проведених досліджень встановлено можливість суттєвого підвищення біологічної активності поверхнево-активних речовин *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 щодо бактеріальних та дріжджових тест-культур внесенням у середовище культивування продуцента живих клітин *S. cerevisiae* БТМ-1.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Pirog T.P., Petrenko N.M., Skrotska O.I., Paliichuk O.I. Shevchuk T.A., Iutynska G.O. // *Mikrobiologichnyi Zhurnal*. 2020. 82(4):94-109.
2. Pirog T., Kluchka L., Skrotska O., Stabnikov V. // *Enzyme and Microbial Technology*. 2020. 142:109677.

#### ЛАКТОБАКТЕРІЇ ТА ЇХ ПРОБІОТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ

Є.С. Горлатенко, О.А. Охмат

Київський національний університет технологій та дизайну  
ligora777@gmail.com

Одним із способів відновлення або конструювання нормальної мікрофлори організму людини є впровадження у практику охорони здоров'я пробіотиків, бактеріальних препаратів, отриманих з представників факультативної й облигатної мікрофлори людини. До пробіотиків відносять усі препарати, що містять один або кілька умовно-патогенних мікроорганізмів: лактобактерії, біфідобактерії, молочнокислі стрептококи, дріжджові грибки, непатогенні різновиди кишкової палички тощо. Пробиотики посилюють імунітет людини, підвищують колонізаційну резистентність її організму, сприяють модуляції мікробіоти кишечника, запобігають розвитку алергічних реакцій тощо.

Лактобактерії є грампозитивними неспороутворювальними бактеріями, облигатними або факультативними анаеробами з високою ферментативною активністю. У процесі метаболізму лактобактерій здатні продукувати молочну кислоту, перекис водню, лізоцим і речовини з антибіотичною активністю [1-3].

Лактобактерії володіють широким спектром властивостей: допомагають стимулювати продукування шлункового соку і ферментів, необхідних для підвищення ефективності процесів травлення; здатні зменшувати побічні ефекти антибіотиків; сприяти розщепленню солей жовчних кислот і нормалізації ліпідного обміну; здатні захистити клітини епітелію від пошкодження; посилюють регенерацію слизової оболонки кишківника; зменшують запальні процеси шляхом нормалізації загального складу мікрофлори тощо [1–3]. Лактобактерії відомі також антиоксидантними, антагоністичними, імуномодуючими, психобіогічними властивостями [4–5].

Лактобактерії локалізуються, як правило у тонкому кишківнику, ротовій порожнині та піхві людини. При цьому в організмі налічують більше 50 видів лактобактерій, найпоширенішими з яких є представники родів *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus Reuteri*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus fermentum* [6].

*Lactobacillus acidophilus* продукують молочну кислоту та перекис водню, виробляють ацидофілін, ацидолін, бактеріоцини та лактоцидини, інгібують деякі види раку, знижують рівень холестерину у крові людини.

*Lactobacillus reuteri* ферментують гліцерин, що призводить до вироблення антибіотику на основі реутерину, зменшують частоту респіраторних і кишкових інфекцій, зменшують прояви колік, ротавірусної інфекції та діареї у дітей до 3 років.

*Lactobacillus plantarum* продукують молочну кислоту та антимікробні речовини, мають здатність розріджувати желатин, запобігають надвиробництву дріждзів.

*Lactobacillus rhamnosus* успішно колонізують урогенітальну зону, витісняючи шкідливу мікрофлору; відновлюють кисле середовище піхви.

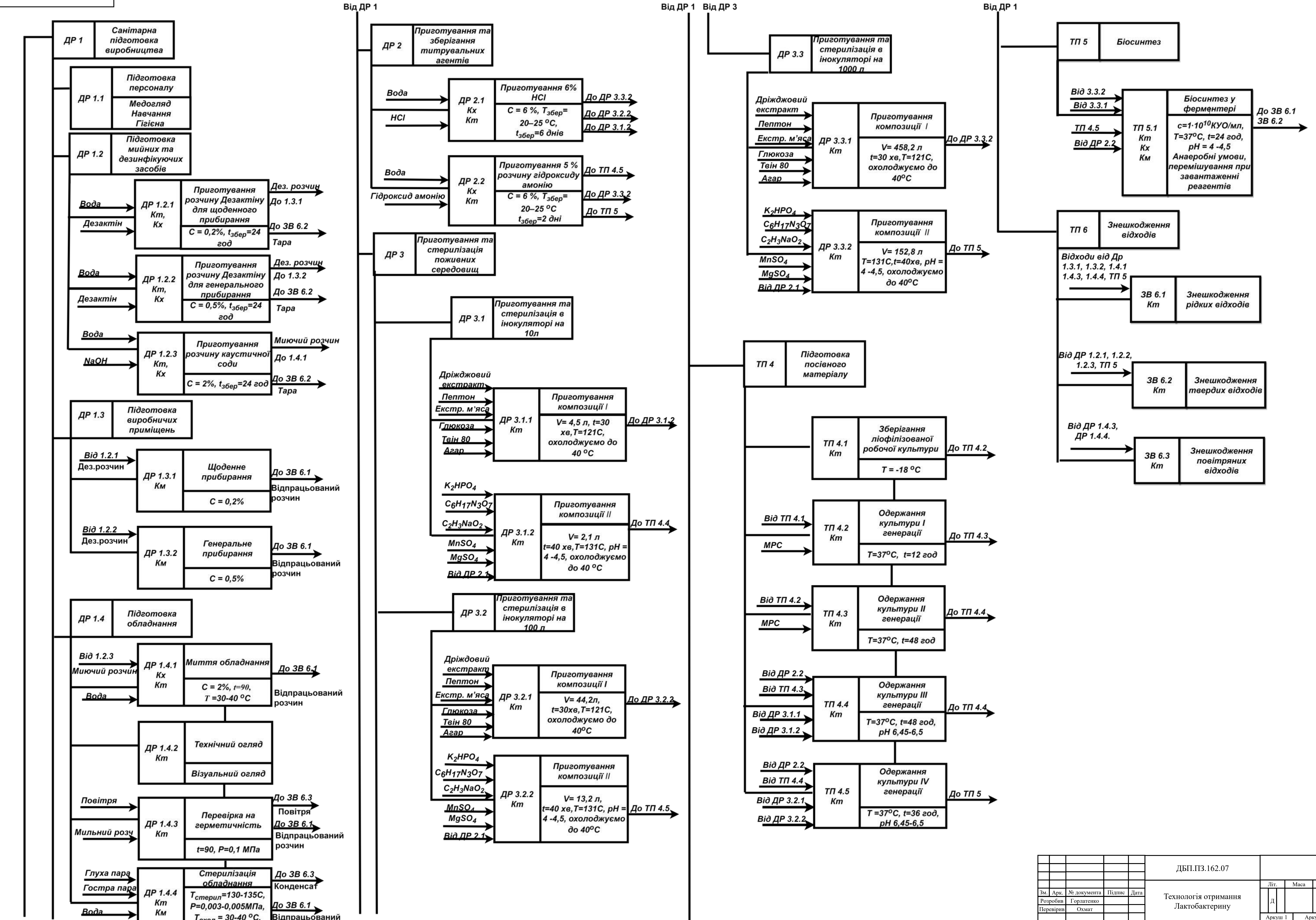
*Lactobacillus fermentum* нейтралізують токсичні продукти, що виробляються при перетравлюванні їжі; здатні переводити звичайний кальцій в лактат кальцію, який швидше та краще засвоюється організмом людини; здатні вилучати холестерин у свою клітинну мембрану, що сприяє зниженню його рівня у сироватці крові.

Найбільш важливою властивістю лактобактерій є здатність захищати стінки кишківника від проникнення у внутрішню стінку організму людини токсинів і бактерій. А отже, застосування препаратів на основі лактобактерій є одним з найбільш перспективних напрямів нормалізації мікрофлори та загального оздоровлення організму людини, важливою складовою профілактичних та лікувальних заходів в галузі охорони здоров'я.

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Kato S., Hamouda N., Kano Y., Oikawa Y., Tanaka Y., Matsumoto K., et al. // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 2017. 44(10):1017–1025.
2. Kim M.S., Byun J.S., Yoon Y.S., Yum D.Y., Chung M.J., Lee J.C. // Benefic. Microbes. 2017. 8(2): 231–241.
3. Zhang X., Esmail G. A., Alzeer A. F., Arasu M. V., Vijayaraghavan P., Choi K. C., & Al-Dhabi N. A. // Saudi Journal of Biological Sciences. 2020. 27.12: 3505-3513.
4. Benbara T., Lalouche S., Drider D., Bendali F. // Beneficial microbes. 2020. 11.2: 163-173.
5. Ai C., Ma N., Zhang Q., Wang G., Liu X., Tian F., et al. // PLoS One. 2016. 11(10): e0164697.
6. Yan F., Polk D.B. // Applied and environmental microbiology. 2008. 74.16: 4985–4996.





ДБП.ПЗ.162.07				Літ.			Маса			Масштаб		
Технологія отримання Лактобактерію				Д						1:1		
Блок-схема				Аркуш 1			Аркуш 1			КНУТД, ББТск-20		