

**НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
“КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ”**

Факультет біотехнології і біотехніки
(повна назва інституту/факультету)

Кафедра промислової біотехнології
(повна назва кафедри)

Дипломний проект

на здобуття ступеня бакалавра

зі спеціальності 6.051401 Біотехнологія
(код та назва напрямку підготовки або спеціальності)

на тему: Технологія виробництва імуномодулятора на основі лізату
лактобацил. Дільниця підготовки посівного матеріалу

Виконав (-ла): студент (-ка) 4 курсу, групи БТ-11
(шифр групи)

Скоробогатько Антоніна Михайлівна
(прізвище, ім'я, по батькові)

Керівник доц., к.с.-г.н. Дехтяренко Н.В.
(посада, науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

Консультанти Розділ 5 доц., к.т.н. Ружинська Л.І.
(назва розділу) (посада, вчене звання, науковий ступінь, прізвище, ініціали)

Розділ 6 доц., к.т.н. Орленко А.Т.
(назва розділу) (посада, вчене звання, науковий ступінь, прізвище, ініціали)

Рецензент асист. Зубченко Л.С.
(посада, вчене звання, науковий ступінь, прізвище та ініціали)

Київ – 2015 року

Забруднення довкілля, загострення екологічних проблем, а й не рідко нездоровий спосіб життя все частіше призводять до порушення функціонування імунної системи пересічних мешканців. Зниження імунітету, в свою чергу, зумовлює не лише зниження рівня життя в цілому, але й суттєво впливає на ефективність і прогноз лікування різноманітних захворювань.

Саме тому надзвичайно актуальним є комплексне лікування онкологічних та запальних захворювань шляхом впливу на порушений імунітет за допомогою сучасних лікарських препаратів - імуномодуляторів.

Останнім часом серед імуномодуляторів все більшого значення набувають лікарські засоби біологічного (природного) походження, які надають ефективний і, головне, безпечний вплив на людський організм.

Імуностимулюючою активністю володіють пробіотичні мікроорганізми, які при введенні в склад продуктів харчування сприяють відновленню та підтриманню балансу нормальної мікробіоти організму.

На підставі аналізу результатів досліджень, проведених як на здорових добровольцях, так і на пацієнтах з різними захворюваннями, можна стверджувати, що пробіотики надають імуномодулюючу дію багатогранно впливаючи на функціонування імунної системи організму.

В якості лікувально-профілактичного засобу пробіотики добре зарекомендували себе при лікуванні захворювань, у патогенезі яких певну роль відіграє порушення захисної функції слизових оболонок.

Таким чином, застосування імуномодуляторів на основі пробіотиків в комплексі лікувальних заходів при гострих і хронічних запальних процесах може розглядатися як перспективний напрямок, що вимагає подальшого розвитку. Тому метою даного дипломного проекту є вдосконалення технології виробництва імуномодулятора на основі лізату лактобацил.

Завданням дипломної роботи є:

1. Провести пошук та охарактеризувати високопродуктивний штам лактобацил для виробництва природного імуномодулятора.

2. Провести аналіз біохімічних основ виробництва.
3. Розглянути основні методи отримання промислових штамів та запропонувати схему отримання продуценту.
4. На основі отриманих даних розробити технологічну та апаратурну схеми виробництва імуномодулятора на основі лізату лактобацил.
5. Провести розрахунок та розробити конструкцію посівного апарату для культивування продуценту з метою накопичення достатньої кількості біомаси для подальшого вирощування в основному ферментері.
6. Передбачити заходи і засоби щодо забезпечення здорових умов праці та пожежної безпеки на виробництві.

У першому розділі «Характеристика біологічного агента» на основі аналізу літературних даних в якості продуцента для проведення технологічного процесу запропоновано новий штам *Lactobacillus delbrueckii* TS1-06, який вирізняється своїми високими технологічними показниками, продукує антибіотикоподібні речовини (бактеріоцини) та має виражені антагоністичні властивості по відношенню до багатьох патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів.

Стабільні властивості штаму *Lactobacillus delbrueckii* TS1-06, що не змінюються при зберіганні, в процесі культивування та при впливі екстремальних чинників дозволяють судити про його промислову придатність.

Проаналізовано систематичне положення штаму, морфолого-цитологічні, культуральні, фізіолого-біохімічні та серологічні ознаки, місця поширення штаму в природі.

Встановлено, що згідно визначника бактерій Берджі штам *Lactobacillus delbrueckii* TS1-06 відноситься до групи 19 «Грампозитивні неспороутворюючі палички правильної форми». Клітини бактерій з'єднані в ланцюжки, які в рідкому середовищі мають середній розмір 3 бацили. Розмір клітин - $0,5-1,2 \times 3,0-10,0$ мкм.

Бактерії штаму *Lactobacillus delbrueckii* TS1-06 є хемоорганотрофами.

Енергію отримують в результаті гомоферментативного молочнокислого бродіння. Для росту на поживних середовищах потребують факторів росту і вітамінів. Факультативні анаероби, мікроаерофіли.

Зі спеціальних поживних середовищ найбільш оптимальним є середовище МРС (Ман, Рогоза, Шарп), яке отримало у світовій практиці широке поширення. Тому з метою швидкого накопичення біомаси на стадії підготовки посівного матеріалу запропоновано використовувати саме його.

Враховуючи економічні міркування, для стадії біосинтезу молочнокислих бактерій у ферментері, який має значно більший об'єм, ніж посівний апарат, запропоновано використовувати модифіковане казеїново-дріжджове поживне середовище, що навідрізняється від середовища МРС не містить цистеїну, який є дорогим іноземним компонентом.

У другому розділі «Біохімічні основи виробництва» наведено характеристику кінцевого продукту, його компонентний склад, методи очистки та механізми впливу на організм людини.

Кінцевий продукт виробництва являє собою лізат бактерій виду *Lactobacillus delbrueckii*. Склад препарату: діюча речовина – глюкозамінілмурамілпентапептид; консервант – ніпагін; супутні речовини – продукти метаболізму, фракції цитоплазми, полісахариди, вільні амінокислоти до 7%.

Методом очистки цільового продукту обрано термокислотний гідроліз, оскільки саме такий спосіб отримання лізату дозволяє зберегти якомога більшу кількість біологічно активних речовин, в тому числі і мурамілпентапептидоглікану.

Препарат багатогранно впливає на основні чинники вродженого і набутого імунітету: активує клітини моноцитарно-макрофагового ряду, стимулює фагоцитоз, нормалізує кількість Т-лімфоцитів, стимулює секреторну активність макрофагів, посилює синтез ряду цитокінів.

У третьому розділі «Методи отримання промислових продуцентів» обґрунтовано основні методи створення високопродуктивних промислових

штамів та запропоновано схему отримання продуценту, що використовується в роботі.

Природні штами мікроорганізмів в основному низькопродуктивні. Тому в мікробіологічній промисловості застосовують селекційні методи: індукований мутагенез, штучний добір, методи генної та клітинної інженерії.

Для даної промисловості метод штучного добору забезпечує отримання найбільш ефективного промислового штаму *Lactobacillus delbrueckii* TS1-06.

Схема отримання продуцента, що використовується в роботі включає наступні етапи: відбір зразків сирого молока для виділення культури молочнокислих бактерій; посів в стерильне молоко та інкубація до згортання молока; перевірка отриманого згустку на типовість органолептичних властивостей і мікрофлори; посів на щільне поживне середовище - агар з гідролізованим молоком; отримання моноколоній шляхом пересіву; вивчення цільових властивостей колоній; аналіз та відбір клітин з бажаними властивостями; стабілізація штаму; отримання промислового продуценту.

У четвертому розділі «Технологічна частина» охарактеризовано кінцеву продукцію виробництва - продукт являє собою термокислотний гідролізат лактобактерій та є рідкою фракцією для перорального вживання. На українському ринку аналогів такої продукції немає.

Здійснено перелік та коротку характеристику сировини, матеріалів та напівпродуктів, які використовуються на виробництві.

Обрано технологічну схему виробництва та наведено опис технологічного процесу, що складається з наступних стадій:

1) Допоміжні роботи:

- санітарна підготовка виробництва, що включає підготовку миючих та дезинфікуючих розчинів, підготовку персоналу, підготовку обладнання і комунікацій, підготовку виробничих приміщень;
- підготовка повітря;
- підготовка споживчої тари;
- приготування поживного середовища.

2) Стадій основного технологічного процесу:

- підготовка посівного матеріалу;
- біосинтез молочнокислих бактерій у ферментері;
- відокремлення біомаси;
- термокислотний гідроліз;
- нейтралізація;
- центрифугування;
- стандартизація препарату;
- розлив і закупорка флаконів.

3) Стадії пакування, маркування, відвантаження готового продукту.

4) Стадії знезараження відходів та промислових викидів.

Відповідно до технологічної схеми виробництва розроблено апаратурну схему.

Складено матеріальний баланс виробництва на один виробничий цикл.

Здійснено перелік усіх контрольних точок на виробництві, які забезпечують належну якість продукції.

У п'ятому розділі «Розрахунок обладнання для проведення технологічного процесу» обрано та обгрунтовано конструкцію посівного апарату для підготовки інокуляту *Lactobacillus delbrueckii* з метою накопичення достатньої кількості біомаси для можливості подальшого її вирощування в основному ферментері з більшим об'ємом.

Розрахований посівний апарат має об'єм 250 л, оснащений турбінною мішалкою, потужність двигуна складає 0,75 кВт. Габаритні розміри наступні: довжина 1010 мм, ширина 1010 мм, висота 1590 мм.

Обгрунтовано вибір загальнозаводського обладнання.

У шостому розділі «Охорона праці» на основі даних щодо шкідливих та небезпечних виробничих факторів передбачено заходи і засоби з охорони праці для забезпечення пожежної та екологічної безпеки на підприємстві, а також безпечних умов праці.

ВИСНОВКИ

В дипломному проекті розроблено технологію виробництва імуномодулятору з лізату пробіотичних бактерій. В якості продуцента обрано новий штам *Lactobacillus delbrueckii* TS1-06, який характеризується високими технологічними показниками і генетичною стабільністю.

1. Розглянуто характеристику продуцента: його місце в міжнародній систематиці, культуральні, фізіолого-біохімічні та серологічні ознаки, місця поширення штаму в природі.

2. Описані властивості діючої речовини кінцевого продукту – мурамілпентапептидоглікану, який є компонентом клітинної стінки бактерій, та процес його синтезу в бактеріальній клітині. Встановлено, що оптимальним способом отримання цільового продукту є термокислотний гідроліз. Розглянуто принцип імуномодулюючої дії препарату та інші механізми впливу на організм людини.

3. Розглянуто методи створення високопродуктивних штамів молочнокислих бактерій. Встановлено, що найефективнішим методом отримання промислових продуцентів з метою використання їх як біологічних імуномодуляторів є селекційний метод штучного добору.

4. Обрано технологічну схему виробництва і основні параметри контролю. Складено матеріальний баланс виробництва. Відповідно до технологічної схеми наведено апаратурну схему виробництва.

5. На основі аналізу даних розроблено конструкцію посівного апарату для культивування продуценту з метою накопичення достатньої кількості біомаси для подальшого вирощування в ферментері. Проведено розрахунок, який підтверджує надійність обраної конструкції і забезпечує відповідний контроль параметрів.

6. Згідно чинних норм передбачені заходи і засоби щодо забезпечення здорових, безпечних умов праці та пожежної безпеки.