

**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 пробіотику «Лактіале».

Дільниця виробничого біосинтезу

Виконав: студент 4 курсу, групи

БТ-11

(шифр групи)

Янченко В'ячеслав Юрійович

(прізвище, ім'я, по батькові)

Керівник

доц., к.б.н. Жолнер Лілія Григорівна

(посада, науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

Консультанти

Розділ 5

(назва розділу)

доц., к.т.н. Ружинська Л.І.

(посада, вчене звання, науковий ступінь, прізвище, ініціали)

Розділ 6

(назва розділу)

доц., к.т.н. Орленко А.Т.

(посада, вчене звання, науковий ступінь, прізвище, ініціали)

Рецензент

ст.викл. к.т.н. Щурська К.О.

(посада, вчене звання, науковий ступінь, прізвище та ініціали)

Київ – 2015 року

Серйозною проблемою сучасної медицини є неухильне погіршення здоров'я населення. Особливо велику занепокоєність викликає поширення різноманітних інфекцій. Є все більше доказів того, що ріст кількості інфекційних захворювань обумовлений кофліктом людини з внутрішнім ендогенним та екзогенним мікробним світом.

Збереження та підтримка фізіологічної бактеріальної колонізації основних біотопів організму людини є одним з найважливіших механізмів адаптації людини до умов навколишнього середовища, що визначає стан здоров'я. Тому важливими є розробка та виробництво лікувально-профілактичних препаратів для підтримки мікрофлори людини. Серед них особливої популярності набули пробіотичні препарати.

Пробіотики для медичного застосування – це бактеріальні препарати з живих непатогенних мікробних культур, що володіють антагоністичною активністю щодо патогенних і умовно-патогенних бактерій, призначені для корекції нормальної мікрофлори людини. Завдяки стабілізації та оптимізації функцій нормальної мікрофлори, вони надають позитивні ефекти на фізіологічні, біохімічні та імунні реакції організму людини.

Тому створення нових ефективних пробіотиків має важливе значення як для лікувальних, так і для профілактичних цілей.

У зв'язку з цим тема нашої дипломної роботи є надзвичайно актуальною.

Метою роботи є розробка технології виробництва пробіотичного препарату «Лактіале».

«Лактіале» – сучасний мультипробіотик, який складається з комплексу семи найважливіших корисних бактерій – біфідобактерій, лактобактерій та стрептокока, які в нормі присутні в мікрофлорі кишечника здорової людини. Він рекомендується для використання при підвищеному газоутворенні, спазмах, коліках, діареї, запорах та інших кишкових розладах, викликаних дисбактеріозом кишечника.

Для досягнення поставленої мети потрібно вивчити морфолого-фізіологічні, культуральні особливості продуцентів; запропонувати методи

отримання промислових штамів; розробити оптимальну технологію виробництва препарату та підібрати відповідне обладнання; скласти технологічну та апаратурну схеми виробництва; розрахувати апарат, який би задовольняв усі умови виробничого біосинтезу, виконати його креслення.

Препарат «Лактіале» містить ліофілізовані (ліофільно висушені) живі ослаблені штами нормальної мікрофлори кишечника, які після прийому всередину через 1-3 години (час, необхідний для виходу бактерій із анабіозу) заселяють кишечник і починають проявляти свою дію (адгезію, антагонізм).

«Лактіале» містить 7 корисних штамів пробіотичних мікроорганізмів:

- *Lactobacillus casei* PXN 37;
- *Lactobacillus rhamnosus* PXN 54;
- *Streptococcus thermophilus* PXN 66;
- *Bifidobacterium breve* PXN 25;
- *Lactobacillus acidophilus* PXN 35;
- *Bifidobacterium longum* PXN 30;
- *Lactobacillus bulgaricus* PXN 39;

Рід *Lactobacillus*

Клітини паличковидні, зазвичай правильної форми, 0,5 – 1,2 \* 1,0 – 10,0 мкм. Як правило, палички довгі, але іноді майже коковидні, зазвичай в коротких ланцюжках. Грампозитивні; спор не утворюють. Інколи мають екзополісахаридні капсули. Запасні речовини (волютин, гранульоза, крохмаль, жири).

Рід *Bifidobacterium*

Палички, надзвичайно варіабельні за формою, 0,5 – 1,3 \* 1,5-8 мкм, зазвичай дещо вигнуті, булавовидні та часто розгалуджені. Розміщення клітин одиночно, парами, V-подібно, іноді ланцюжками, розетками тощо. Зустрічаються коковидні форми. Грампозитивні; часто забарвлюються нерівномірно. Нерухомі; неспороутворюючі; некислотостійкі. Накопичують гранульозу, волютин, жири.

Рід *Streptococcus*

Клітини сферичні або овальні, діаметром 0,5 – 2,0 мкм, за росту в рідкому поживному середовищі – в парах або ланцюжках, іноді видовжені вздовж осі ланцюжки (ланцетовидної форми). Нерухомі; неспороутворюючі; грампозитивні. У деяких видів клітин оточена екзополісахаридною капсулою. Накопичують волютин, жири, гранульозу

Функції продуцентів у складі пробіотику наступні:

**Чотири види лактобактерій:**

- придушення гнильних і гноєродних бактерій (виробляють молочну кислоту, спирт)
- запобігання можливого проникнення патогенних мікробів в слизову оболонку кишечника

Широкий спектр лактобактерій «Лактіале» (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*) а також наявність у складі Лактіале *Streptococcus thermophilus* обумовлює більш виражену антагоністичну бактерицидну дію в порівнянні з іншими пробіотиками, крім того Лактіале зовсім безпечний для організму дитини.

*Lactobacillus casei* чинять протизапальну дію на епітеліальні клітини кишечника людини, інфіковані *Shigella* і *E. Coli*, пригнічують ріст і збільшують частоту ерадикації *Clostridium difficile*, *Shigella* і *H. Pylori*

*Lactobacillus rhamnosus* має здатність продукувати бактеріциноподібні речовини, сприяє утворенню в кишечнику молочної кислоти і перекису водню, рівень рН фактора зміщується в кислу сторону, запобігає виведенню біосурфактантів, які пригнічують адгезію хвороботворних бактерій до стінок кишечника.

*Lactobacillus acidophilus* пригнічує ріст бактерій, що викликають гострі інфекційні захворювання кишечника, і стимулює виведення накопичених токсинів.

*Lactobacillus bulgaricus* має значну біологічну активність щодо *Clostridium difficile*, *Shigella* і *E. Coli* [19][20].

## **Двавидибіфідобактерій: *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum***

- захист від патогенної мікрофлори (особливо у дітей)
- мають антагоністичну активність по відношенню до патогенних мікроорганізмівстимулюють систему місцевого імунітету

Антагоністична активність бактерій препарату пов'язана з продукуванням у великих кількостях органічних кислот (головним чином, молочної та оцтової), антибіотикоподібних субстанцій різного хімічного складу, спектру і механізму дії (лактоцини), перекису водню.

Багато бактерій синтезують антибіотичні речовини білково-пептидної природи, що вбивають споріднені види або штами, або гальмують їх ріст, або мають більш широкий спектр антибактеріальної дії. Ці речовини з вельми специфічною дією отримали назву бактеріоцинів, біосинтез яких кодується особливими плазмидами і відбувається в більшості випадків на рибосомах. Бактеріоцини – це найбільш високомолекулярні антибіотики. Так, наприклад, коліцини мають молекулярну масу 50000-90000 Да.

Технологія виробництва біотерапевтичного препарату «Лактіале» не потребує додаткових методів очистки. Основною задачею є отримання концентрованої мікробіологічно-чистої біомаси клітин.

Поживне середовище забезпечує життєдіяльність, ріст та розвиток біооб'єкту, ефективний синтез цільового продукту. Компонентний склад поживного середовища залежить від харчових потреб мікроорганізму.

Основний виробничий біосинтез проводиться на казеїново-дріжджовому поживному середовищі.

Оскільки завданням даного проекту була розробка дільниці біосинтезу було підібрано і спроектовано ферментер для накопичення мікробної маси штамів.

До ферментеру висувається ряд вимог для створення оптимальних умов росту бактеріальної культури:

- підтримання певного значення рН;
- відвід тепла, що виділяється в процесі ферментації;

- забезпечення стерильності.

Обраний ферментер об'ємом 1000 л задовольняє поставлені умови.

Ферментер оснащений рубашкою з гарячим теплоносієм, в якості якого обрано воду. Сорочка має штуцери для вводу і виводу теплоносія.

Апарат оснащений установкою для термометра, заміром тиску, датчиком рН-метра.

Проведений розрахунок підтверджує надійність обраної конструкції та забезпечення відповідного контролю параметрів.

Також було підібрано апаратурну та технологічну схеми лінії виробництва пробіотику, що враховують особливості технології даного виробництва та включають параметри контролю, виконання яких забезпечує належну якість продукції та безпеку персоналу.

У виробництві знаходяться в обігу шкідливі, пожежо-, вибухонебезпечні, токсичні, горючі речовини і матеріали. На виробництві використовується електрична, механічна, теплова енергія, вакуум. Транспорт сировини та готової продукції представлений конвеєрами та трубопроводами. Проект виконано за вимогами охорони праці, пожежної безпеки та екології.

На основі аналізу шкідливих та небезпечних виробничих факторів нами передбачено заходи і засоби щодо створення на даному підприємстві безпечних умов праці та пожежної безпеки.

### Висновок

У дипломному проекті запропоновано технологію виробництва пробіотичного препарату «Лактіале» методом глибинного культивування.

1. Обґрунтовано вибір штамів-продуцентів *Lactobacillus casei*PXN 37, *Lactobacillus rhamnosus*PXN 54, *Streptococcus thermophilus*PXN 66, *Bifidobacterium breve*PXN 25, *Lactobacillus acidophilus*PXN 35, *Bifidobacterium longum*PXN 30, *Lactobacillus bulgaricus*PXN-39. Вони володіють вираженими пробіотичними властивостями, антагоністичною дією до ряду патогенних видів бактерій, резистентністю до деяких антибіотиків. Обрано

схему отримання промислових штамів шляхом селекції з використанням індукованого мутагенезу.

2. Запропоноване проведення накопичення посівного матеріалу штамів родів *Lactobacillus* і *Streptococcus*, а також роду *Bifidobacterium* у двох різних інокуляторах, що значно інтенсифікує процес.

3. За фізіолого-біохімічними особливостями продуцентів встановлені оптимальні умови культивування всіх штамів в одному апараті. Запропоновано проведення біосинтезу пробіотичних мікроорганізмів при температурі  $t=37^{\circ}\text{C}$  в анаеробних умовах. Такий спосіб виробничого культивування є більш простим та економічно вигідним, і при цьому не впливає на якість вихідного продукту.

4. Обрано технологічну схему, що враховує особливості культивування всіх продуцентів біомаси пробіотику. Складено матеріальний баланс стадії виробничого біосинтезу. Для реалізації технологічного процесу підібрано відповідне апаратурне оснащення. Складено апаратурну схему виробництва.

5. Обґрунтовано вибір конструкції ферментера об'ємом  $1\text{ м}^3$ , з турбінною мішалкою. Технологічний та конструктивний розрахунки підтверджують надійність та працездатність апарату.

6. Проектом передбачені заходи та засоби щодо забезпечення безпечних умов праці та виконання вимог щодо екологічної та пожежної безпеки.