

**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

з напрямку підготовки _____ **6.051401 Біотехнологія** _____
(код і назва)

на тему: Технологія виробництва лактобактерину. Дільниця біосинтезу

Виконав: студент 4 курсу, групи _____ **БТ-21** _____
(шифр групи)

_____ **Карпенко Вікторія Василівна** _____
(прізвище, ім'я, по батькові) (підпис)

Керівник _____ **доц., к.б.н. Орябінська Л.Б.** _____
(посада, науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали) (підпис)

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

Рецензент _____ **доц., к.б.н. Ситнік О.І.** _____
(посада, науковий ступінь, вчене звання, науковий ступінь, прізвище та ініціали) (підпис)

Київ – 2016 року

Відомо, що нормальна мікрофлора кишківника відіграє важливе значення в регулюванні оптимального рівня метаболічних процесів, які відбуваються в організмі, а також в створенні високого рівня колонізаційної резистентності травного тракту стосовно патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів. Однак в останні роки відмічається тенденція до зростання рівня патологічних станів, що супроводжуються порушенням мікроекологічної рівноваги кишківника – дисбактеріозом, на який страждають близько 90% населення України.

Враховуючи, що лактобацили складають значну частину кишкової мікрофлори, основними засобами корекції їх дефіциту є терапія лікувальними препаратами – пробіотиками або харчовими продуктами, які містять лактобацили.

Метою роботи є розробка технології виробництва пробіотичного препарату «Лактобактерин у капсулах».

«Лактобактерин» є флагманом фармацевтичного ринку України. Це сучасний пробіотик на основі бактерій штаму *Lactobacillus plantarum* 8P-A3. Препарат застосовується з лікувальною та профілактичною метою при дисфункціях кишківника, дисбактеріозах та гострих кишкових інфекціях.

Новизною даного проекту є удосконалення існуючої технології виробництва за рахунок об'єднання декількох етапів виробництва та автоматизації процесу, що виключає людський фактор з виробництва.

Крім того, у даному проекті запропоновано випускати готову лікарську форму у вигляді капсул з кишковорозчинним покриттям, що дозволить покращити не лише споживчі якості препарату (у порівнянні з флаконами і ампульними препаратами), підвищити його стійкість при зберіганні, захистити пробіотик від деградуючої дії ферментів і рН шлунку, але й збільшити біодоступність і пролонгованість дії і як наслідок посилити профілактичний і терапевтичний ефект препарату.

Для досягнення поставленої мети були поставлені наступні завдання: вивчити морфолого-фізіологічні, культуральні особливості продуценту;

запропонувати методи отримання промислового штаму; 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, передбачити всі необхідні вимоги щодо охорони праці та охорони навколишнього середовища на виробництві пробіотику.

Встановлено, що по морфології і основним фізіолого-біохімічним властивостям штаму *Lactobacillus plantarum* 8P-A3 відповідає типовому опису виду *L. plantarum*.

Бактерії цього штаму мікроскопічно являють собою грампозитивні палички, що розташовані одинично або в ланцюжках, розміром від 1,0 до 8,4 мкм. За морфологічними ознаками *Lactobacillus plantarum* 8P-A3 не рухомий, не утворює спор.

Обраний штаму володіє високими пробіотичними властивостями, що є визначальним при виборі виробничого штаму.

Представники нормальної мікрофлори кишківника, а також пробіотичні штаму мікроорганізмів володіють високими імуногенними властивостями, що виявляється підтримкою концентрації секреторного Ig A на слизовій оболонці, регуляцією дозрівання лімфоїдного апарату кишківника, генералізацією імунної відповіді. Секреторні IgA здатні зв'язуватися із патогеними мікроорганізмами та іншими антигенами і перешкоджати їхній адгезії на епітеліоцитах кишечника. Лактобацили із препарату «Лактобактерин» вирізняються помірно антагоністичною активністю щодо грамнегативних бактерій.

Оцінка здатності адгезії до епітеліальних тканин є важливою не лише для створення колонізаційної резистентності макроорганізму, але і для стимуляції імунної системи. Показник адгезивності штаму *L. plantarum* 8P-A3 відповідає низькому ступеню адгезії.

Вивчення стійкості штаму до біологічних рідин виявило високу резистентність *L. plantarum* 8P-A3 до шлункового соку і жовчі.

Літературний огляд дозволяє зробити висновок про те, що лактобактерії *L.plantarum* 8P-A3 містять локус, що імовірно, відповідає за синтез двох бактеріоцинів (антибактеріальні речовини білкової природи, що синтезуються бактеріями і подавляють життєдіяльність інших штамів того самого виду чи споріднених видів) – плантарацинів EFi NC8. Основним механізмом антибактеріальної дії плантарацинів є порушення цілісності ЦПМ шляхом пороутворення, що призводить до нерегульованого виходу з клітини іонів калія, амінокислот і інших низькомолекулярних речовин і як наслідок загибелі клітин-мішеней.

Технологія виробництва пробіотичного препарату «Лактобактерин» 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 ділянки біосинтезу було підібрано і спроектовано ферментер для виробничого культивування мікробної маси обраного штаму-продуценту.

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

- підтримання певного значення рН=6,5;
- відвід тепла, що виділяється в процесі ферментації;
- забезпечення стерильності.

Обраний ферментер об'ємом 250 л задовольняє поставленим умовам. 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.

Висновки:

1. Обґрунтовано вибір штаму-продуценту *Lactobacillus plantarum* 8P-A3, що володіє 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. За фізіолого-біохімічними особливостями продуценту встановлені оптимальні умови культивування. Запропоновано проведення біосинтезу пробіотичного мікроорганізму при температурі $t=(37\pm 1)^\circ\text{C}$ в анаеробних умовах. Такий спосіб виробничого культивування є більш простим та економічно вигідним, і при цьому не впливає на якість вихідного продукту.

3. Обрано технологічну схему, що враховує особливості культивування продуценту біомаси пробіотику. Удосконалено спосіб випуску готового продукту – у вигляді капсул з кишковорозчинною оболонкою. Складено матеріальний баланс стадії виробничого біосинтезу. Для реалізації технологічного процесу підібрано відповідне апаратурне оснащення, що було максимально автоматизоване. Складено апаратурну схему виробництва.

4. Обґрунтовано вибір конструкції ферментера об'ємом $0,25 \text{ м}^3$, з лопатевою мішалкою. Технологічний та конструктивний розрахунки підтверджують надійність та працездатність апарату.

5. Проектом передбачені заходи та засоби щодо створення безпечних умов праці та виконання вимог щодо екологічної та пожежної безпеки.