

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 кормових дріжджів»

Виконала: студентка групи ББТ-19
Спеціальності 162 Біотехнології
та біоінженерія
Діана СТЕПАНСЬКА
Науковий керівник:
к.б.н., Ольга ШИДЛОВСЬКА
Рецензент:
к.б.н., Ігор ГРЕЦЬКИЙ

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

_____ Олена МОКРОУСОВА

« ____ » _____ 2023 року

ЗАВДАННЯ
НА ДИПЛОМНИЙ БАКАЛАВРСЬКИЙ ПРОЄКТ СТУДЕНТУ
Степанській Діані Богданівні

1. Тема роботи: **Технологія отримання кормових дріжджів**

Науковий керівник роботи Шидловська Ольга Андріївна, к.б.н.

затверджені наказом КНУТД від «08» листопада 2023 року № 224-уч.

2. Строк подання студентом роботи _____

3. Вихідні дані до роботи: завдання на дипломний бакалаврський проєкт; техніко-економічне обґрунтування отримання біомаси каротин-вмісних кормових дріжджів, обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва, характеристика біологічного агента, технологічна схема та її опис, контроль якості цільового продукту.

4. Зміст дипломного проєкту: вступ, техніко-економічне обґрунтування, обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва, характеристика біологічного агента, опис технологічної схеми, контроль якості цільового продукту, висновки, список використаних джерел, додатки.

5. Дата видачі завдання _____ 2023 р.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

| № з/п | Назва етапів дипломної бакалаврської роботи | 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 цільового продукту | | |
| 5 | Висновки | | |
| 6 | Оформлення дипломного бакалаврського проєкту | | |
| 7 | Подання дипломного бакалаврського проєкту на кафедру для рецензування | | |
| 8 | Перевірка дипломної магістерської роботи на наявність ознак плагіату | | |
| 9 | Подання дипломної магістерської роботи на затвердження завідувачу кафедри | | |

Студент _____ Діана СТЕПАНСЬКА

Науковий керівник роботи _____ Ольга ШИДЛОВСЬКА

Рецензент _____ Ігор ГРЕЦЬКИЙ

АНОТАЦІЯ

Діана СТЕПАНСЬКА. Технологія отримання кормових дріжджів. –
Рукопис.

Дипломний бакалаврський проєкт за спеціальністю 162 Біотехнологія та інженерія. – Київський національний університет технологій та дизайну, Київ, 2023 рік.

Дипломний бакалаврський проєкт присвячено технології отримання каротинвмісних кормових дріжджів за допомогою *R. glutinis* 32 у відповідності до техніко-економічного обґрунтування.

У дипломному проєкті обґрунтовано технологію виробництва кормових дріжджів. Представлено технологічну схему їх виробництва, яка передбачає доферментаційні роботи, стадії приготування та стерилізації середовища, приготування посівного матеріалу, ферментації, збереження культуральної рідини і знешкодження відходів. Обґрунтовано вибір біологічного об'єкту, поживного середовища, умов та стадій його приготування, технологічного обладнання для реалізації отримання культуральної рідини, кількість та тривалість виробничих циклів.

Дипломний бакалаврський проєкт включає методики контролю стадій виробництва культуральної рідини, що містить кормові каротинвмісні дріжджі.

Ключові слова: кормові дріжджі, R. glutinis 32, біосинтез, каротиноїди.

| | | | | | | | | |
|-----------|------------|-------------|--------|------|---------------|------|-------|---------|
| | | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | | | |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | | | |
| Розробив | Степанська | | | | АНОТАЦІЯ | Літ. | Аркуш | Аркушів |
| Перевірив | Шидловська | | | | | Д | 4 | 1 |
| Н.Контр. | | | | | КНУТД, ББТ-19 | | | |
| Затвердив | | | | | | | | |

ABSTRACT

Diana STEPANSKA. The feed yeast obtaining technology. – Manuscript.

Bachelor's degree project in specialty 162 Biotechnology and engineering – Kyiv National University of Technology and Design, Kyiv, 2023.

The bachelor's thesis project is devoted to the technology of producing carotene-containing fodder yeast using *R. glutinis* 32 in accordance with the feasibility study.

The diploma project substantiates the technology for the production of feed yeast. A technological scheme of their production is presented, which includes pre-fermentation work, stages of preparation and sterilization of the medium, preparation of seed, fermentation, preservation of the culture liquid, and waste disposal. The choice of a biological object, culture medium, conditions and stages of its preparation, technological equipment for the production of culture fluid, the number and duration of production cycles are substantiated.

The bachelor's thesis project includes methods for controlling the stages of production of culture fluid containing fodder carotene-containing yeast.

Keywords: fodder yeast, R. glutinis 32, biosynthesis, carotenoids.

| | | | | | | | |
|-----------|-------|-------------|--------|------|---------------|-------|---------|
| | | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | | |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | | |
| Розробив | | Степанська | | | Літ. | Аркуш | Аркушів |
| Перевірив | | Шидловська | | | Д | 5 | 1 |
| Н.Контр. | | | | | КНУТД, ББТ-19 | | |
| Затвердив | | | | | | | |
| ABSTRACT | | | | | | | |

ЗМІСТ

| | |
|--|----|
| ВСТУП..... | 8 |
| РОЗДІЛ 1 ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ..... | 10 |
| 1.1 Характеристика цільового продукту..... | 10 |
| 1.1.1 Фізико-хімічні властивості..... | 10 |
| 1.1.2 Кормові дріжджі з високим вмістом каротиноїдів (для годівлі птиці)..... | 11 |
| 1.2 Потреба у цільовому продукті..... | 12 |
| 1.3 Розрахунок потужності виробництва..... | 13 |
| 1.3.1 Розрахунок кількості кормових дріжджів з високим вмістом каротиноїдів, для забезпечення 1,5% річної потреби у цільовому продукті на замовлення компанії «Агрооувен»..... | 13 |
| 1.3.2 Розрахунок потужності виробництва каротиноїдних дріжджів <i>R. glutinis</i> 32..... | 14 |
| 1.4 Розрахунок кількості виробничих циклів отримання культуральної рідини та розрахунок об'єму ферментера..... | 14 |
| РОЗДІЛ 2 ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИРОБНИЦТВА..... | 16 |
| 2.1 Обґрунтування вибору біологічного агента..... | 16 |
| 2.2 Обґрунтування способу проведення біосинтезу..... | 21 |
| 2.2.1 Обґрунтування вибору ферментатора..... | 21 |
| 2.2.2 Обґрунтування вибору стадії підготовки аераційного повітря..... | 22 |
| 2.3 Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу, підготовка поживного середовища та параметри стерилізації..... | 22 |
| 2.3.1 Розрахунок кількості посівного матеріалу для вирощування культури в інокуляторі 1 м ³ | 23 |

| | | | | | | | | |
|-----------|-------|-------------|--------|------|---------------|------|-------|---------|
| | | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | | | |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | | | |
| Розробив | | Степанська | | | ЗМІСТ | Літ. | Аркуш | Аркушів |
| Перевірив | | Шидловська | | | | Д | 6 | 2 |
| Н.Контр. | | | | | КНУТД, ББТ-19 | | | |
| Затвердив | | | | | | | | |

| | |
|--|-----------|
| 2.3.2 Розрахунок кількості посівного матеріалу для вирощування культури в інокуляторі 100 л..... | 24 |
| 2.3.3 Розрахунок кількості посівного матеріалу для вирощування культури в інокуляторі 10 л..... | 25 |
| 2.3.4 Розрахунок кількості посівного матеріалу для вирощування культури в колбах на качалці..... | 25 |
| 2.4 Обґрунтування способу приготування і стерилізації поживного середовища для одержання інокуляту і виробничого біосинтезу..... | 26 |
| РОЗДІЛ 3 ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА..... | 28 |
| 3.1 Таксономічний статус..... | 28 |
| 3.2 Морфолого-культуральні властивості..... | 28 |
| 3.3 Фізіолого-біохімічні ознаки..... | 29 |
| РОЗДІЛ 4. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ..... | 33 |
| 4.1 Блок-схема технологічного процесу..... | 33 |
| 4.2 Опис технологічної схеми..... | 33 |
| РОЗДІЛ 5 КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ..... | 51 |
| 5.1 Мікробіологічний контроль..... | 51 |
| 5.2 Фізико-хімічний контроль..... | 52 |
| ВИСНОВКИ..... | 54 |
| СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ..... | 55 |
| ДОДАТКИ..... | 60 |

ВСТУП

Виробництво кормових добавок за допомогою мікробного синтезу та розробка нових методів підвищення продуктивності виробництва м'яса та яєць – є важливим для забезпечення продовольчої безпеки світу. Альтернативним підходом є використання антибіотиків у сільському господарстві, але це заборонено у ЄС та багатьох країнах світу з метою запобігання поширення стійких до антибіотиків бактерій. Саме тому, актуальність роботи полягає в дослідженні особливостей кормових дріжджів з підвищеним вмістом каротиноїдів, їх відмінності, в залежності від обраного продуценту та вивчення впливу каротиноїдів на птахів.

Метою дослідження є розробити технологічну схему мікробного синтезу каротинвмісної біомаси з урахуванням особливостей біосинтезу та потужності виробництва.

Завданням дослідження є – вивчення характеристик цільового продукту, його вплив на споживача; розрахунок потужності виробництва для забезпечення замовленої потреби у каротиноїдних дріжджах компанії-замовника з подальшим розрахунком об'єму культуральної рідини на рік та за 1 цикл; обґрунтування вибору ферментера; порівняльна характеристика продуцентів каротиноїдної, дріжджової біомаси для вибору мікроорганізму-продуцента; дослідження особливостей процесу виробничого культивування цільового продукту для вибору ферментеру з відповідними технічними характеристиками; описання технологічного процесу виробничого циклу, розрахунок кількості поживного середовища та посівного матеріалу на всіх стадіях підготовки посівного матеріалу та виробничого культивування.

| | | | | | | | |
|-----------|------------|-------------|--------|------|---------------|-------|---------|
| | | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | | |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | | |
| Розробив | Степанська | | | | Літ. | Аркуш | Аркушів |
| Перевірив | Шидловська | | | | Д | 8 | 2 |
| Н.Контр. | | | | | ВСТУП | | |
| Затвердив | | | | | | | |
| | | | | | КНУТД, ББТ-19 | | |

Об'єктом дослідження є процес отримання біомаси кормових дріжджів продуцента *R. glutinis* 32.

Предметом дослідження є обґрунтування процесу дріжджового культивування для отримання натуральної кормової добавки, збагаченої каротиноїдами для птахів.

Методи дослідження включають в себе методи аналізу, порівняння, синтезу та узагальнення відомих наукових фактів щодо отримання кормових дріжджів, збагачених каротиноїдами. Технологічна схема виробництва розроблялася відповідно до стандартів GMP.

Апробація отриманих результатів. Апробація роботи пройшла на конференції Державного біотехнологічного університету, з доповіддю на тему «Використання астаксантину як кормової добавки у птахівництві». Конференція проходила у місті Харків, 27-28 квітня 2023 року. Сертифікат про участь представлений у додатку А, опубліковані тези у додатку Б.

| | | | | | | |
|-----|-------|-------------|--------|------|---------------|-------|
| | | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | Аркуш |
| | | | | | | 9 |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | |

РОЗДІЛ 1

ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ

1.1 Характеристика цільового продукту та застосування

Кормові дріжджі – білкова кормова добавка для харчування тварин.

У склад білку кормових дріжджів входять всі життєво необхідні амінокислоти. Білок дріжджів засвоюється тваринним організмом повніше за білок рослинного походження. За поживністю кормові дріжджі прирівнюються до кормів тваринного походження, м'ясокістному та рибному борошну. Кормові дріжджі, отримані з зернової барди, мають у своєму складі більше вітаміну В, ніж м'ясокістне та рибне борошно.

1.1.1 Фізико-хімічні властивості

Зовнішній вигляд – порошок, лусочки, гранули.

Колір – від темно-жовтого до коричневого.

Запах – характерний для дріжджів, без сторонніх запахів.

Вміст вологи – не більше 10%.

Масова доля сирого протеїну (у перерахунку на абсолютно суху речовину) – не менше 46%.

Масова доля сирого білку за Бранштейном (у перерахунку на абсолютно суху речовину) – не менше 41%.

Дріжджі багаті білками, їх вміст може бути до 66%. 10% маси білку – незамінні амінокислоти.

У склад білку кормових дріжджів входять всі життєво необхідні

| | | | | | | | | |
|-----------|-------|-------------|--------|------|--|---------------|-------|---------|
| | | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | | | |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | РОЗДІЛ 1 ТЕХНІКО- ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ | Літ. | Аркуш | Аркушів |
| Розробив | | Степанська | | | | Д | 10 | 6 |
| Перевірив | | Шидловська | | | | КНУТД, ББТ-19 | | |
| | | | | | | | | |
| Н.Контр. | | | | | | | | |
| Затвердив | | | | | | | | |

амінокислоти. Білок дріжджів засвоюється тваринним організмом повніше за білок рослинного походження. За поживністю кормові дріжджі прирівнюються до кормів тваринного походження, м'ясокістному та рибному борошну. Кормові дріжджі, отримані з зернової барди, мають у своєму складі більше вітаміну В, ніж м'ясокістне та рибне борошно.

У складі кормових дріжджів є наступні, незамінні для тваринного організму амінокислоти (у %): аргінін – 4,3%; гістидин – 2,8%; лізин – 7,5%; цистин – 1,1%; метіонін – 2%; треонін – 5,5%; тирозин – 4,2%; триптофан – 1,4%; фенілаланін – 4,1%; лейцин – 7,3%; ізолейцин – 6%; валін – 5,3%.

В 1 кг кормових дріжджів (у грамах): кальцію – 2,02, фосфору 17,66, перетравлюваного білку 348, кормових одиниць – 1,04.

Як показують дослідження поживних властивостей кормових дріжджів, вони добре перетравлюються в організмі тварин (перетравлюється 80%-90% білків). За сумою незамінних амінокислот близькі до еталону ФАО, а за вмістом у білках лізину, треоніну, валіну і лейцину суттєво перевищують еталон ФАО (ФАО – Продовольча та сільськогосподарська організація ООН.)

1.1.2 Кормові дріжджі з високим вмістом каротиноїдів (для годівлі птиці).

У тварин, каротиноїди накопичуються в жовтій плямі сітківки ока та впливають на сприйняття кольору, є антиоксидантами та імуномодуляторами, приймають участь у забарвленні пір'я та шкіри тварин. Всі ці функції каротиноїдів впливають на продуктивність та якісні характеристики продукції птахівництва, тому каротиноїди широко застосовуються у годівлі тварин та надходять у раціон, як з природних джерел, так і в якості кормових добавок. Також каротиноїди впливають на колір м'яса птиці та жовтків яєць.

Обов'язковими компонентами в харчуванні людини і годівлі сільськогосподарських тварин є вітамін А, або його попередники каротиноїди,

| | | | | | | |
|-----|-------|-------------|--------|------|---------------|-------|
| | | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | Аркуш |
| | | | | | | 11 |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | |

які відіграють важливу роль в метаболізмі. Ідентифіковано близько 600 різних каротиноїдів, із них тільки 10 % володіють про-А вітамінною активністю. На сьогодні встановлено, що каротиноїди підвищують резистентність організму до мутагенезу і канцерогенезу, знижують вікові дегенеративні зміни у тканинах, інгібують проліферацію злоякісних клітин, активують синтез цитокінів та інтерлейкінів, беруть участь у регуляції транскрипції генів, а також проявляють імуномодулюючу дію.

1.2 Потреба у цільовому продукті

Кормові дріжджі використовуються, як добавка до раціону тварин, з метою покращення здоров'я тварин, збагачення їх раціону великим різноманіттям амінокислот, мікроелементів. Вони можуть виготовлятися з: субстрату на основі гідролізату целюлозного виробництва, післяспиртової барди, молочної сироватки та різних відходів агропромислового комплексу. Дріжджі збагачені каротиноїдами, більш дорогі у виробництві, так як продуценти, що здатні синтезувати каротиноїди, потребують більш дорогих поживних середовищ. Дріжджі збагачені астаксантином в основному використовують у розведенні риб сімейства лососевих. Відносно, нещодавно, кормові дріжджі збагачені каротиноїдами почали використовувати у птахівництві. Каротиноїди – це природні пігменти, що здатні накопичуватися у організмі, та впливають на колір м'яса та жовтку в яйцях, що робить продукт більш привабливим для споживача. Дріжджі *P. rhodozyma* використовують у США та інших країнах як кормову добавку до раціонів деяких тварин. Каротиноїди синтезовані хімічним способом мають іншу молекулярну структуру, отже не можуть бути використані в якості дешевої альтернативи.

Компанія «Агроовен», має, виробництво яєць потужністю 58,0 млн яєць на рік. Одна курка несе, приблизно 220 яєць на рік. Отже, на виробництві, приблизно

| | | | | | | |
|-----|-------|-------------|--------|------|---------------|-------|
| | | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | Аркуш |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | 12 |

$$58\,000\,000 / 220 = 263\,636 \text{ кур-несушок на рік [18]}$$

Отримані розрахунки будуть використані для подальших розрахунків потреби в цільовому продукті та потужності виробництва.

1.3. Розрахунок потужності виробництва

1.3.1. Розрахунок кількості кормових дріжджів з високим вмістом каротиноїдів, для забезпечення 1,5% річної потреби у цільовому продукті на замовлення компанії «Агроовен»

Встановлено, що для птиці оптимальним є додавання 7% кормових дріжджів у раціон. Норми годівлі в середньому становить 120-170 г на одну курку в день. Отже, беремо 120 г на день. Тож розрахуємо добову норму вживання кормових дріжджів для 1 птаха:

$$120 \text{ г} \times 7\% = 8,4 \text{ г/добу}$$

*Подальший розрахунок будемо здійснювати з розрахунку для забезпечення 1% від потреб ринку. Збагачені корми дають птахам тільки в період з листопада по квітень тобто під час відсутності зелені в раціоні [17]. Тому розрахунок ведемо для забезпечення курей кормом на 6 місяців (180 днів на рік).

Таким чином, споживання на рік для однієї курки становить:

$$8,4 \text{ г} \times 180 \text{ днів} = 1512 \text{ г/рік}$$

Дарі розрахуємо потребу у продукті для забезпечення 1,5% потреби:

$$263\,636 \text{ птахів} - 100\%$$

$$X \text{ птахів} - 1,5\%$$

$$X = (263\,636 * 1,5) / 100 = 3\,954 \text{ птахів}$$

Згідно з проведеними вище розрахунками можна вирахувати об'єм потреби у цільовому продукті у 1,5 % в обраному підприємстві:

$$3\,954 \text{ птахів} \times 1512 \text{ г/рік} = 5\,978 \text{ кг}$$

| | | | | | | | |
|-----|-------|-------------|--------|------|--|---------------|-------|
| | | | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | Аркуш |
| | | | | | | | 13 |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | | |

Таким чином, потреба у продукті на замовлення компанії «Агровен» складає 5 987 кг на рік.

1.3.2. Розрахунок потужності виробництва каротиноїдних дріжджів *R. glutinis* 32

Встановлено що *R. glutinis* 32 синтезує 12,2 г/л біомаси за 72 год.

Визначимо об'єм культуральної рідини для отримання 5 978 кг біомаси:

$$V_{кр} = 5\,978\,000 \text{ г} / 12,2 \text{ г/л} = 490\,000 \text{ л}$$

Таким чином, для отримання визначеної біомаси дріжджів потрібно приготувати 490 000 л культуральної рідини.

1.4. Розрахунок кількості виробничих циклів для отримання річної (замовленої) потреби в цільовому продукті та геометричний об'єм ферментера.

Враховуючи кількість культуральної рідини необхідної для забезпечення річної потреби вирахованої у пункті 1.3.2 проводимо наступні розрахунки.

Прийmemo кількість робочих трудоднів ($T_{рд}$) 330, тоді кількість продукту на добу ($V_{д}$) становитиме:

$$V_{д} = V_{кр} / T_{рд} = 490\,000 \text{ л} / 330 = 1\,484 \text{ л}$$

Враховуючи отримані дані, кількість продукту за цикл буде становити:

$$V_{кр} = (K_1 \times V_{д} \times T_{цф}) / 24 = (1,1 \times 1\,484 \times 78) / 24 = 5\,305,3 \text{ л/цикл}$$

де $T_{цф}$ – цикл роботи ферментера (мийка та огляд – 1,5 год, перевірка на герметичність – 0,5 год, підігрів та стерилізація апарату – 1,5 год, охолодження ферментера – 0,5 год, завантаження поживного середовища – 1,5 год, засів культурою – 0,5 год та ферментація – 72 год) = 78 год; K_1 – коефіцієнт запасу, що враховує можливість нестерильних операцій.

Далі розрахуємо кількість циклів на рік:

$$N_{ц} = V_{кр} / V_{крц} = 490\,000 \text{ л} / 5\,305,5 \text{ л} = 92 \text{ цикли}$$

| | | | | | | | | | |
|-----|-------|-------------|--------|------|--|--|--|---------------|-------|
| | | | | | | | | | Аркуш |
| | | | | | | | | | 14 |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | |

Геометричний об'єм ферментера для отримання 5 900 л культуральної рідини з урахуванням втрат в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря (10%) та з коефіцієнтом заповнення 0,6 має становити:

$$V_{\Gamma} = V_{\text{крц}}/K_{\text{зап}} = 5\,900 / 0,6 = 9\,833 \text{ л} \approx 10 \text{ м}^3$$

де $K_{\text{зап}}$ – коефіцієнт заповнення ферментера.

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{зф}} = V_{\text{цк}}/V_{\text{ф}} = 5\,900 / 10\,000 = 0,59$$

Коефіцієнт заповнення знаходиться в межах допустимого і не перевищує значення 0,6. Таким чином, для проведення основного біосинтезу і накопичення необхідного об'єму культуральної рідини будемо викорисовувати ферментер об'ємом 10 м³.

| | | | | | | |
|-----|-------|-------------|--------|------|---------------|-------|
| | | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | Аркуш |
| | | | | | | 15 |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | |

РОЗДІЛ 2

ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИРОБНИЦТВА

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

Для отримання дріжджевої біомаси з підвищеним вмістом каротиноїдів можуть використовуватися різні мутантні штамми червоних дріжджів *Phaffia rhodozyma*, *Rhodotorula spp.*, *Sporobolomyces spp.*, *Rhodospiridium spp.*

Види дріжджів *Rhodotorula* та *Phaffia* є відомими продуцентами каротиноїдів. Основними каротиноїдами, що синтезують дріжджі *Rhodotorula* є β -каротин, торулин та торулародин, у різних пропорціях; *Phaffia rhodozyma* синтезують також атаксантин.

Rhodotorula glutinis 32 при ферментації на поживному середовищі з глюкозою у якості джерела карбону синтезує: 80% β -каротину, 17% торулину та 2,3% торулародину, 0,7% інші каротиноїди.

Дріжджі *P. rhodozyma* використовують у США та інших країнах як кормову добавку до раціонів деяких тварин.

У таблицях 2.1, 2.2 та 2.3 наведено 4 різних продуценти каротиноїдів серед дріжджів, наведені їх поживні середовища, продуктивність синтезу дріжджевої біомаси та каротиноїдів, а також особливості технологічного процесу.

Тривалість культивування є достатньо довгою у обраних продуцентів, через те що синтез каротиноїдів відбувається у стаціонарній фазі росту. Так, найнижча продуктивність у продуцента *Phaffia rhodozyma* CBS 215-88. Продуценти *Xanthophyllomyces dendrorhous* DSMZ 5626, *Rhodotorula glutinis* 32

| | | | | | | | | |
|-----------|-------|-------------|--------|------|---|------|-------|---------|
| | | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | | | |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | | | |
| Розробив | | Степанська | | | РОЗДІЛ 2 ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИРОБНИЦТВА | Літ. | Аркуш | Аркушів |
| Перевірив | | Шидловська | | | | Д | 16 | 12 |
| Н.Контр. | | | | | КНУТД, ББТ-19 | | | |
| Затвердив | | | | | | | | |

та *Rhodotorula glutinis* NCIM Y є відносно схожими за продуктивністю, найбільш продуктивним серед них є *Rhodotorula glutinis* 32.

Таблиця 2.1

Характеристика показників синтезу різних біологічних агентів
в залежності від складу середовища

| Біологічний агент | Склад поживного середовища, г/л | Показники синтезу | | Тривалість процесу, год | Особливості технологічного процесу | Джерела |
|--|---|--|-------------------------|-------------------------|---|---------|
| | | Кількість біомаси на 1 л культуральної рідини, г/л | Продуктивність, г/л/год | | | |
| <i>Xanthophyllomyces dendrorhous</i> DSMZ 5626 | Джерело вуглецю (декстроза) – 30 Дріжджовий екстракт - 2,0 Солодовий екстракт – 2,0 КН ₂ РО ₄ - 7,0 (NH ₄) ₂ SO ₄ - 1,0 MgSO ₄ × 7H ₂ O - 1.5 FeCl ₃ × 6H ₂ O - 0.15 ZnSO ₄ × 7H ₂ O - 0.02 MnSO ₄ × H ₂ O - 0.06 CaCl ₂ × 2H ₂ O - 0.15 | 16,4 | 0,137 г/л/год | 118 год | t - 20 °С; рН - 6; (5М NaOH та 5М HCl) швидкість перемішування – 600 об/хв; аерація – 1 л/хв | [38] |
| <i>Rhodotorula glutinis</i> 32 | Глюкоза – 25 Дріжджовий екстракт - 10 К ₂ НРО ₄ - 2, КН ₂ РО ₄ - 2, MgSO ₄ × 7H ₂ O - 0.1 | 12,2 | 0,169 | 72 | рН – 6; t - 30°С; аерація 0,7 л/хв швидкість перемішування – 400 об/хв | [2] |
| <i>Rhodotorula glutinis</i> NCIM Y | Глюкоза – 25 Дріжджовий екстракт - 10 К ₂ НРО ₄ - 2, КН ₂ РО ₄ - 2, MgSO ₄ × 7H ₂ O - 0.1 | 11,3 | 0,157 | 72 | рН – 6; t – 28 С; перемішування – 500 об/хв. Аерація – 7 л/хв | [2] |

| | | | | | | |
|--|--|-----|------|----|---|------|
| <i>Phaffia rhodozyma</i> CBS 215-88 | Кукурудзяні тверді відходи – 2,5 Сахароза - 3 (NH ₄) ₂ SO ₄ – 2,5 KH ₂ PO ₄ – 0,75 MgSO ₄ – 0,25 Біотин – 0,001 Піногаситель – 0,075 | 7,1 | 0,09 | 72 | Дробне внесення субстрату Аерація – 8,4 л/хв; t 20-22; рН – 4,0 | [39] |
|--|--|-----|------|----|---|------|

На наступному етапі порівняння продуцентів, варто також порівняти особливості кількісного та якісного складу дріжджової біомаси, що залежить від продуцента. Дані наведені у таблиці 2.2.

Таблиця 2.2

Порівняння концентрації каротиноїдів при використанні різних штамів дріжджів та їх якісна характеристика

| Продуцент | Концентрація каротиноїдів на літр культуральної рідини, мг/л | Концентрація каротиноїдів на г біомаси, мг/г | Якісна характеристика каротиноїдів |
|--|--|--|---|
| <i>Xanthophyllomyces dendrorhous</i> DSMZ 5626 | <3,6 | 0,22 | Астаксантин (та інші каротиноїди) |
| <i>Rhodotorula glutinis</i> 32 | 70 | 5,74 | 80% β-каротину, 17% торулину, 2,3% торулародину |
| <i>Rhodotorula glutinis</i> NCIM Y | 9,2 | 0,81 | 3,6 г/л β-каротину |
| <i>Phaffia rhodozyma</i> CBS 215-88 | 9,52 | 1,34 | 6,2 г/л астаксантину, 3,32 інші каротиноїди |

Така порівняльна характеристика продуцентів є недостатньою, так як не враховує різницю у вартості компонентів поживних середовищ для обраних продуцентів. На другому етапі потрібно порівняти вартість поживних середовищ для всіх обраних продуцентів.

З таблиці 2.2 можна зробити висновок, що найвища продуктивність синтезу каротиноїдів на г біомаси спостерігається у *Rhodotorula glutinis* 32.

З таблиці 2.3 видно, що вартість 1 л поживного середовища для *Rhodotorula glutinis* 32 є найбільшою. Найдорожчим є поживне середовище для культивування *Rhodotorula glutinis* NCIM Y та *Rhodotorula glutinis* 32.

Таблиця 2.3

Вартість поживних середовищ для культивування

| Продуцент | Компонент поживного середовища, г/л | Ціна компонента, грн/кг (л) | Вартість компонента (грн) на 1 л середовища | Джерела |
|---|---|-----------------------------|---|---------|
| <i>Xanthophyllo-mycetes dendrorhous</i> DSMZ 5626 | Глюкоза | 100 | 3 | [19] |
| | Дріжджовий екстракт | 1100 | 2,2 | [20] |
| | Солодовий екстракт | 3500 | 7 | [21] |
| | KH ₂ PO ₄ | 138 | 0,97 | [22] |
| | (NH ₄) ₂ SO ₄ | 50 | 0,05 | [23] |
| | MgSO ₄ ×7H ₂ O | 28 | 0,042 | [24] |
| | FeCl ₃ ×6H ₂ O | 150 | 0,022 | [25] |
| | ZnSO ₄ ×7H ₂ O | 62 | 0,001 | [26] |
| | MnSO ₄ ×H ₂ O | 81 | 0,005 | [27] |
| | CaCl ₂ ×2H ₂ O | 55 | 0,008 | [28] |
| Вартість 1 л середовища: 13,30 грн | | | | |
| <i>Rhodotorula glutinis</i> 32 | Глюкоза | 100 | 2,5 | [19] |
| | Дріжджовий екстракт | 1100 | 11 | [20] |
| | K ₂ HPO ₄ | 210 | 0,42 | [30] |
| | KH ₂ PO ₄ | 138 | 0,14 | [22] |
| | MgSO ₄ ×7H ₂ O | 28 | 0,007 | [24] |
| Вартість 1 л середовища: 14,20 грн | | | | |
| <i>Rhodotorula glutinis</i> NCIM Y | Глюкоза | 100 | 2,5 | [19] |
| | Дріжджовий екстракт | 1100 | 11 | [20] |
| | K ₂ HPO ₄ | 210 | 0,42 | [30] |
| | KH ₂ PO ₄ | 138 | 0,276 | [22] |
| | MgSO ₄ ×7H ₂ O | 28 | 0,003 | [24] |
| Вартість 1 л середовища: 14,20 грн | | | | |

2.2 Обґрунтування способу проведення біосинтезу

2.2.1. Обґрунтування вибору ферментатора

Перш ніж обрати ферментер, для біосинтезу кормових дріжджів продуцентом *R. glutinis* 32, треба визначити умови ферментації. Умови ферментації залежать від культуральних властивостей продуцента, та фізико-хімічних властивостей цільового продукту. Визначено, що ферментація відбувається в аеробних умовах, при аерації – 7 л/хв, при температурі 28 °С та при рН – 6. Швидкість перемішування – 500 об/хв.

Для аерації буде використовуватися система для стерилізації повітря та барботер, потужністю роботи від 420 л/год.

Промислове виробництво кормових дріжджів здійснюється за умов, що є сприятливими для росту і розвитку багатьох, зокрема аеробних, мікроорганізмів, що вимагає стерильності обладнання, повітря для аерації, поживного середовища та усіх комунікацій ферментера, для запобігання контамінації.

Промислове виробництво каротиноїдних дріжджів відбувається періодичним глибинним культивуванням. Тривалість ферментації (72 год) зумовлена тим, що максимальне накопичення каротиноїдів спостерігається в стаціонарній фазі росту культури в зв'язку зі старінням клітин, що, ймовірно, може бути загальним механізмом захисту від окисного стресу. Наявність відповідного джерела вуглецю є важливою для біосинтезу каротиноїдів.

Так як процес культивації не впливає на в'язкість середовища, доцільно використовувати мішалки лопатевого типу, зі швидкістю обертів від 500 об/хв.

Також ферментер має бути оснащений рН- метром та системою подачі стерильного розчину луґу, для контролю рівню рН.

Отже, необхідний ферментер загального об'єму 10 м³, оснащений: рН- метром, барботером, датчиком контролю концентрації розчиненого повітря, з лопатевою мішалкою, та датчиком піноутворення.

| | | | | | | |
|-----|-------|-------------|--------|------|---------------|-------|
| | | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | Аркуш |
| | | | | | | 21 |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | |

На ринку представлені різні ферментери, як для глибинного культивування та і для поверхневого, більшість моделей, що є у продажу розраховані на проведення лабораторних досліджень, або виробничого культивування в об'ємі до 30 л. Тож для виробництва об'ємом у 10 м³ необхідно, конструювати ферментер на замовлення. Компанією-виконавцем буде польська ProMill.

2.2.2. Обґрунтування вибору стадії підготовки аераційного повітря

R. glutinis 32 є аеробним мікроорганізмом, отже синтез має відбуватися в аеробних умовах, що обумовлює необхідність наявності барботера для подачі стерильного повітря. Також це обумовлює створення системи стерилізації повітря. Атмосферне повітря забирають турбокомпресором через забірну шахту на висоті 20-30 м, де стабільна концентрація мікроорганізмів. Насамперед повітря потрапляє у фільтри попереднього очищення, в яких звільняється від грубого аерозолу - пилу.

Для стерилізації повітря для вирощування посівного матеріалу та виробничого культивування використовують фільтри грубої очистки (головні фільтри) та індивідуальні фільтри (мають високу ефективність). Індивідуальні фільтри встановлюють безпосередньо перед ферментером чи інокулятором.

2.3 Розрахунок кількості необхідних стадій підготовки посівного матеріалу

За виробничий цикл отримують $V_{кр} = 5\,305,5$ л культуральної рідини. Кількість поживного середовища та посівного матеріалу перед виробничим біосинтезом (з урахуванням втрат в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря (10%)) становитиме:

$$V_{кр} = 5\,305,5 \text{ л}$$
$$V_{роб.1} = \frac{V_{кр.}}{1 - E_{\phi}} = \frac{5\,305,5}{1 - 0,1} = 5\,895 \text{ л}$$

| | | | | | | |
|-----|-------|-------------|--------|------|---------------|-------|
| | | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | Аркуш |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | 22 |

де E_{ϕ} – втрати культуральної рідини під час біосинтезу.

Виробничий синтез буде відбуватися у ферментері з робочим об'ємом 5 900 л.

При вибраному коефіцієнті заповнення $K_{\text{зап}} = 0,6$ можливий геометричний об'єм ферментера $V_{\phi.1} = 5\,900/0,6 = 9\,833$ л. Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний ферментер $V_{\text{сф}} = 10\,000$ л та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{зап.1}} = \frac{V_{\text{роб.1}}}{V_{\text{сф}}} = \frac{5\,900}{10\,000} = 0,59$$

Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у допустимих межах.

Кількість посівного матеріалу для ферментера становить 10% від об'єму поживного середовища. Тоді кількість поживного середовища у ферментері становитиме:

$$V_{\text{пс.1}} = \frac{V_{\text{роб.1}}}{1+X_{\phi}} = \frac{5\,900}{1+0,1} = 5\,363 \text{ л} \approx 5\,350 \text{ л}$$

де X_{ϕ} – доза посівного матеріалу для ферментера.

Кількість посівного матеріалу для ферментера становить:

$$V_{\text{пм1}} = V_{\text{роб.1}} - V_{\text{пс1}} = 5\,900 - 5\,350 = 550 \text{ л}$$

2.3.1 Розрахунок кількості посівного матеріалу для вирощування культури в інокуляторі 1 м³

Для одержання 550 л посівного матеріалу кількість поживного середовища та посівного матеріалу перед культивуванням в інокуляторі (з урахуванням втрат в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря) становитиме:

$$V_{\text{роб.2}} = \frac{V_{\text{пм.1}}}{1-E_{\text{ін}}} = \frac{550}{1-0,1} = 611 \text{ л}$$

| | | | | | | |
|-----|-------|-------------|--------|------|---------------|-------|
| | | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | Аркуш |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | 23 |

Можливий геометричний об'єм інокулятора $V_{ін.} = 611/0,6 = 1\ 018$ л.
Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний ферментер $V_{сф} = 1000$ л = 1 м³
та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{зап.2} = \frac{V_{роб.2}}{V_{сін}} = \frac{611}{1\ 000} = 0,61$$

Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у допустимих межах.

Кількість поживного середовища в інокуляторі становитиме:

$$V_{пс.2} = \frac{V_{роб.2}}{1+X_{ін}} = \frac{611}{1+0,1} = 555$$
 л

Тоді кількість посівного матеріалу для інокулятора становить:

$$V_{пм2} = V_{роб.2} - V_{пс2} = 611 - 555 = 56$$
 л

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

Для одержання 56 л посівного матеріалу кількість поживного середовища та посівного матеріалу перед культивуванням в інокуляторі (з урахуванням втрат в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря) становитиме:

$$V_{роб.3} = \frac{V_{пм.2}}{1-E_{ін}} = \frac{56}{1-0,1} = 62,2$$
 л

Можливий геометричний об'єм інокулятора $V_{ін.} = 62,2/0,6 = 103,7$ л.
Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний ферментер $V_{сф} = 100$ л та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{зап.3} = \frac{V_{роб.3}}{V_{сін}} = \frac{62,2}{100} = 0,62$$

Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у допустимих межах.

Кількість поживного середовища в інокуляторі становитиме:

$$V_{пс.3} = \frac{V_{роб.3}}{1+X_{ін}} = \frac{62,2}{1+0,1} = 56,5$$
 л

Тоді кількість посівного матеріалу для інокулятора становить:

$$V_{пм3} = V_{роб.3} - V_{пс3} = 62,2 - 56,5 = 5,7$$
 л

| | | | | | | | | | |
|-----|-------|-------------|--------|------|--|--|--|---------------|-------|
| | | | | | | | | | Аркуш |
| | | | | | | | | | 24 |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | |

2.3.3 Розрахунок кількості посівного матеріалу для вирощування культури в інокуляторі 10 л

Для одержання 5,7 л посівного матеріалу кількість поживного середовища та посівного матеріалу перед культивуванням в інокуляторі (з урахуванням втрат в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря) становитиме:

$$V_{\text{роб.4}} = \frac{V_{\text{пм.3}}}{1 - E_{\text{ін}}} = \frac{5,7}{1 - 0,1} = 6,3 \text{ л}$$

Можливий геометричний об'єм інокулятора $V_{\text{ін.}} = 6,3/0,6 = 10,5$ л. Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний ферментер $V_{\text{сф}} = 10$ л та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{зап.4}} = \frac{V_{\text{роб.4}}}{V_{\text{сін}}} = \frac{6,3}{10} = 0,63$$

Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у допустимих межах.

Кількість поживного середовища в інокуляторі становитиме:

$$V_{\text{пс.4}} = \frac{V_{\text{роб.4}}}{1 + X_{\text{ін}}} = \frac{6,3}{1 + 0,1} = 5,72 \text{ л}$$

Тоді кількість посівного матеріалу для інокулятора становить:

$$V_{\text{пм4}} = V_{\text{роб.4}} - V_{\text{пс4}} = 6,3 - 5,7 = 0,6 \text{ л}$$

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

Для одержання 600 мл посівного матеріалу використовують колби Ерленмеєра, об'ємом 500 мл, з коефіцієнтом заповнення 0,4. Кількість колб становитиме:

$$N_{\text{колб}} = \frac{V_{\text{пм4}}}{V_{\text{колб}} \times K_3} = \frac{600}{500 \times 0,4} = 3$$

Отже на етапі отримання 600 мл посівного матеріалу культивування відбувається у 3 колбах на качалці.

| | | | | | | |
|-----|-------|-------------|--------|------|---------------|-------|
| | | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | Аркуш |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | 25 |

Тож, відповідно до розрахунків вище, можна зробити висновок, що для забезпечення потужності виробництва у 5 305,5 л культуральної рідини на 1 цикл ферментації, підготовка посівного матеріалу відбувається у 4 етапи.

Таблиця 2.5

Результати розрахунків об'ємів інокуляторів для підготовки посівного матеріалу і виробничого біосинтезу

| Об'єм ферментера, л | Коефіцієнт заповнення | Робочий об'єм ферментера, л | Об'єм посівного матеріалу (10%), л | Конденсат (10%), л | Об'єм поживного середовища, л |
|---------------------|-----------------------|-----------------------------|------------------------------------|--------------------|-------------------------------|
| 10 000 | 0,59 | 5 900 | 550 | 594,5 | 5 350 |
| 1 000 | 0,61 | 611 | 56 | 61 | 555 |
| 100 | 0,62 | 62,2 | 5,7 | 6,2 | 56,5 |
| 10 | 0,63 | 6,3 | 0,6 | 0,6 | 5,7 |

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

Складові поживного середовища:

Глюкоза – 25

Дріжджовий екстракт - 10

K_2HPO_4 – 2

KH_2PO_4 – 2

$MgSO_4 \times 7H_2O$ – 0.1

Композиція 1: Глюкоза - режим стерилізації: 112 °С, 30 хв.

Композиція 2. Дріжджовий екстракт: режим стерилізації 121 °С, 15 хв.

Композиція 3: K_2HPO_4 , KH_2PO_4 - режим стерилізації: 131 °С, 40 хв.

Композиція 4: $MgSO_4 \times 7H_2O$ - режим стерилізації: 131 °С, 40 хв.

Глюкоза та дріжджовий екстракт є термолабільними компонентами, тож стерилізуються окремо, при помірних умовах. Солі стерилізуються при

| | | | | | | | | | | |
|-----|-------|-------------|--------|------|--|--|--|--|--|-------|
| | | | | | | | | | | Аркуш |
| | | | | | | | | | | 26 |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | | | | | |

стандартних умовах стерилізації. $MgSO_4 \times 7H_2O$ буде стерилізуватись окремо для запобігання утворенню нерозчинного фосфату магнію.

Таким чином, для отримання посівного матеріалу в інокуляторах, на кожному етапі буде проведено приготування поживного середовища, що буде складатися з чотирьох композицій. Особливістю даної роботи є те, що для основного біосинтезу буде використовуватися одна композиція, в якій всі компоненти середовища будуть стерилізуватися разом. Дана стадія необхідна для оптимізації процесу отримання каротинвмісної біомаси кормових дріжджів.

| | | | | | | |
|-----|-------|-------------|--------|------|---------------|-------|
| | | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | Аркуш |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | 27 |

РОЗДІЛ 3

ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

3.1 Таксономічний статус

Штамм *Rhodotorula glutinis* 32, є мутантним штамом диких дріжджів *Rhodotorula glutinis*. Босхале та інші отримали мутантний штамм *Rhodotorula glutinis* 32 з дикого штаму *Rhodotorula glutinis* NCIM 3353 під впливом УФ-випромінення, що призвело до збільшення виходу β -каротину у мутанту у 120 разів, у порівнянні з початковим штамом.

Домен: Еукаріоти

Царство: Гриби (Fungi)

Відділ: Базидіомікотові (Basidiomycota)

Клас: *Microbotryomycetes*

Порядок: *Sporidiobolales*

Родина: *Sporidiobolaceae*

Рід: *Rhodotorula*

Вид: *Rhodotorula glutinis*

3.2 Морфолого-культуральні властивості

Дріжджі *Rhodotorula* є загально-розповсюдженими сапрофітами.

Rhodotorula — це екологічно розповсюджені дріжджі, які зустрічаються у повітрі, ґрунті, озерах, океанах, молоці та фруктових соках. Дріжджі *Rhodotorula glutinis* відносяться до пігментних дріжджів, також їх називають олійними дріжджами, тому що вони здатні накопичувати жири. Клітини штамів *Rhodotorula* мають рожево-чероне забарвлення, віддітінок залежить від якісного

| | | | | | | | |
|---|------------|-------------|--------|------|---------------|-------|---------|
| | | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | | |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | | |
| Розробив | Степанська | | | | Літ. | Аркуш | Аркушів |
| Перевірив | Шидловська | | | | Д | 28 | 5 |
| Н.Контр. | | | | | КНУТД, ББТ-19 | | |
| Затвердив | | | | | | | |
| РОЗДІЛ 3 ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА | | | | | | | |

та кількісного складу каротиноїдів. Колонії виглядають субшаровими, круглими, або видовженими. З гладкою, блискучою поверхнею та рівними краями (рис. 2.1).



Рисунок 2.1 Зовнішній вигляд колоній *Rhodotorula glutinis* [33]

3.3 Фізіолого-біохімічні ознаки

Rhodotorula glutinis 32 здатні асимілювати різноманітні джерела карбону, такі як, моносахариди, дисахариди, полісахариди, органічні кислоти та спирти.

У таблиці 3.1 наведено порівняння показників росту та синтезу каротиноїдів, в залежності від обраного джерела карбону, при тривалості синтезу 72 години.

Таблиця 3.1

| Джерело карбону (40 г/л) | Кількість біомаси г/л | Кількість каротиноїдів мг/л | Кількість каротиноїдів мг/г |
|--------------------------|-----------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Глюкоза | 12,2 | 22,0 | 1,8 |
| Фруктоза | 9,3 | 14,4 | 1,5 |
| Сахароза | 11,7 | 18,3 | 1,6 |
| Гідролізована патока | 10,8 | 18,0 | 1,7 |
| Необроблена патока | 6,8 | 10,1 | 1,5 |

Також джіжджі *Rhodotorula glutinis* здатні асимілювати різноманітні джерела азоту (солі амонію, нітрати, сечовину та амінокислоти) а також складні субстрати (яловичий екстракт, дріжджовий екстракт, солодвий екстракт та інше)

Також для зниження затрат на виробництво можливим є використання відходів агропромислового комплексу.

У таблиці 3.2 наведено порівняння показників синтезу при використанні різних джерел азоту

Таблиця 3.2

| Джерело азоту | Кількість біомаси г/л | Кількість каротиноїдів мг/л | Кількість каротиноїдів мг/г | % β -каротину від усіх каротиноїдів у біомасі |
|------------------------------|-----------------------|-----------------------------|-----------------------------|---|
| Солодовий екстракт | 10,1 | 24,1 | 2,4 | 62 |
| Гідролізат казеїну | 12,1 | 24,5 | 1,9 | 70 |
| Пептон | 10,5 | 21,2 | 2,0 | 72 |
| Триптон | 11,3 | 22,0 | 1,8 | 75 |
| Соєвий пептон | 12,2 | 29,3 | 2,4 | 75 |
| Дріжджовий екстракт | 12,7 | 42,6 | 3,4 | 79 |
| NH_3NO_3 | 10,2 | 8,8 | 0,9 | 56 |
| NH_3Cl | 7,2 | 17,8 | 2,4 | 57 |
| $(\text{NH}_3)_2\text{SO}_4$ | 12,1 | 14,4 | 1,3 | 74 |

Отже, відповідно до даних таблиці 3.2, можна зробити висновок, що найвищий вихід біомаси та каротиноїдів та найвищий відсоток β -каротину забезпечує використання дріжджового екстракту, в якості джерела азоту.

Також встановлено, що *Rhodotorula glutinis* 32 здатні рости при різному рН від 2 до 10. Було проведено дослідження впливу рН середовища, на синтез, дані наведені у таблиці 3.3

Таблиця 3.3

| рН | Кількість біомаси | Кількість каротиноїдів мг/л | Кількість каротиноїдів мг/г | % β -каротину від усіх каротиноїдів у біомасі |
|----|-------------------|-----------------------------|-----------------------------|---|
| 2 | 1,6 | 4 | 2,5 | 66 |
| 3 | 7,9 | 10 | 1,27 | 66 |
| 4 | 9,1 | 13 | 1,43 | 65 |
| 5 | 8,9 | 16 | 1,79 | 64 |
| 6 | 10,8 | 18 | 1,67 | 66 |
| 7 | 11,3 | 18 | 1,59 | 63 |

| | | | | |
|----|-----|----|------|----|
| 8 | 7,6 | 11 | 1,44 | 61 |
| 9 | 9,4 | 8 | 0,85 | 60 |
| 10 | 3,5 | 8 | 2,28 | 59 |

З таблиці 3.3 можна зробити висновок, що найсприятливішим рН для синтезу каротиноїдної біомаси є рН 6, 7. При рН 6 синтез дріжджової біомаси відбувається менш активно, але на кількість синтезованих каротиноїдів це не впливає, а також вищий відсоток вмісту β-каротину.

Температура є ще одним чинником, що впливає на біосинтез каротиноїдів, та ріст дріжджів. Для *Rhodotorula glutinis* було встановлено, що оптимальна температура росту відрізняється від температури біосинтезу каротиноїдів. Досліджено, що оптимальна температура для росту *Rhodotorula glutinis* 32 є 30° С, тоді як температура при якій вихід каротиноїдів був найвищий є 20 °С.

Схема біосинтезу каротиноїдів у дріжджів *Rhodotorula glutinis* наведена на рисунку 2.2.

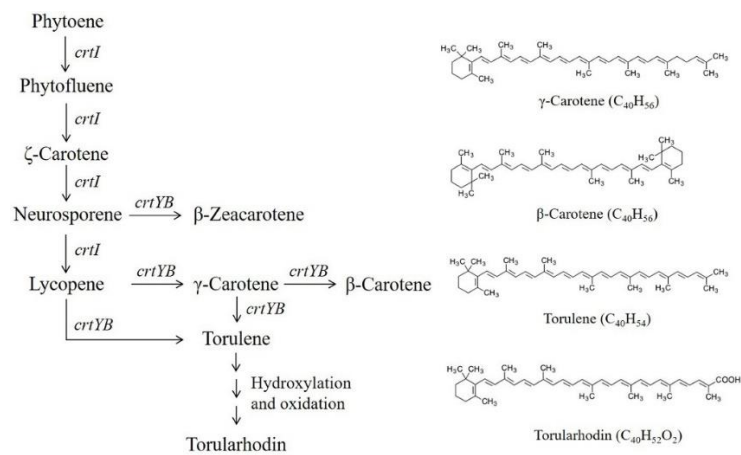


Рисунок 2.2 Загальна схема біосинтезу каротиноїдів у дріжджів [34]

На біосинтез каротиноїдів впливає світло, оскільки воно збільшує інтенсивність синтезу каротиноїдів, сприяє більшому росту клітин, а також підвищує активність ферментів, що беруть участь у синтезі каротиноїдів.

Температура є ще одним важливим фактор, що впливає на синтез каротиноїдів. Це може вплинути на розмноження продуценту, на синтез окремих каротиноїдів та їх співвідношення на шляху біосинтезу. Встановлено, що *Rhodotorula glutinis*, при 25 °C синтезовані β-каротин, торулин и торулародин складають 30% від усіх каротиноїдів, тоді як під час синтезу при 5 °C відсоток β-каротину збільшувався до 64%, тоді як вміст двох інших каротиноїдів значно зменшувався. Отже, можна зробити висновок, що зміна температури впливає на роботу ферменту *crtYB*.

Також встановлено, що багато іонів металів (Ba^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} і Co^{2+}) впливають на каротиногенез.

| | | | | | | |
|-----|-------|-------------|--------|------|---------------|-------|
| | | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | Аркуш |
| | | | | | | 32 |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | |

РОЗДІЛ 4

ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

Технологічна схема отримання біомаси каротиноїдних дріжджів продуцентом *R. glutinis* 32 включає допоміжні роботи, технологічний процес та знешкодження відходів.

4.1 Блок-схема технологічного процесу

Технологічну схему отримання каротиноїдних дріжджів наведено у графічній частині проекту у вигляді презентації.

4.2 Опис технологічної схеми

ДР.1. Проведення інструктажу з техніки безпеки для персоналу

Інструктаж з техніки безпеки має бути проведений для всього персоналу, для забезпечення належного функціонування обладнання виробництва, та для забезпечення безпечних умов праці.

Працівники допускаються до самостійної роботи після вступного інструктажу, навчання, перевірки теоретичних знань, первинного інструктажу на робочому місці, стажування і набуття навичок безпечних методів праці.

Вступний інструктаж з питань охорони праці проводиться з усіма працівниками, які щойно прийняті на роботу (постійну або тимчасову) незалежно від їх освіти, стажу роботи за цією професією або посади.

Первинний інструктаж проводиться на робочому місці до початку роботи з працівником, новоприйнятим (постійно чи тимчасово) на підприємство, а також працівником, який переводиться з одного цеху виробництва до іншого.

| | | | | | | | | |
|-----------|-------|-------------|--------|------|--------------------------------------|------|-------|---------|
| | | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | | | |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | | | |
| Розробив | | Степанська | | | РОЗДІЛ 4 ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ | Літ. | Аркуш | Аркушів |
| Перевірив | | Шидловська | | | | Д | 33 | 19 |
| Н.Контр. | | | | | КНУТД, ББТ-19 | | | |
| Затвердив | | | | | | | | |

При закінченні терміну дії санітарної книжки, до проведення медичного огляду, працівник до роботи не допускається [39].

ДР.2.3. Підготовка одягу

Для запобігання мікробної контамінації, необхідно забезпечити працівників виробництва спецодягом, належної чистоти. Спецодяг має захищати працівників від дії шкідливих речовин на виробництві, та знижувати ризики контамінації продукції. Кожна особа, яка входить у виробничі зони, повинна носити захисний одяг, що відповідає виконуваним нею операціям. Кімнати для переодягання мають бути сконструйовані як повітряні шлюзи і використовуватися для забезпечення фізичного поділу різних етапів зміни одягу і таким чином зводити до мінімуму контамінацію захисного одягу мікроорганізмами і частками.

ДР.2.4. Підготовка дезінфікуючих та мийних засобів

Миття та дезінфекція на мікробіологічному виробництві є першим етапом підготовки виробництва до початку мікробного синтезу. Даний етап включає в себе підготовку мийних та дезінфікуючих засобів для приміщень та персоналу.

ДР.2.4.1. Підготовка мийних засобів (каустична сода)

Для миття та дезінфекції використовується каустична сода. Каустична сода (розчин NaOH) є їдким, токсичним та корозійно-активним матеріалом. Гарячі (2-3%) розчини каустичної соди омилюють жири, гідролізують білок, розщеплюють вуглеводи. Такі розчини каустичної соди при (60-70 °C) виявляють дезінфікуючу дію. В даній технологічній схемі будемо використовувати 2%-вий розчин каустичної соди, для миття та дезінфекції. Відповідно до вимог готувати та зберігати готовий розчин потрібно у пластиковій ємності.

Концентрація каустичної соди у миючому розчині не повинна перевищувати:

- 0,2% - при ручному митті обладнання;
- 2,0% - при механічному митті обладнання

| | | | | | | |
|-----|-------|-------------|--------|------|---------------|-------|
| | | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | Аркуш |
| | | | | | | 35 |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | |

ДР.2.4.2. Підготовка дезінфікуючих засобів для приміщень

Для обробки приміщень підприємства застосовується готовий розчин «Дескозал» (глюксаль, бензалконіум хлорид, ізотридеанолетоксилат, бензотріазол) виробництва ТзОВ «ДезоМарк» (Україна) у полімерних каністрах об'ємом 10 л. Концентрат розводять до 5%-го розчину, який зберігається до двох тижнів. 5%-м розчином обробляють поверхні: стіни, двері, підлога і т.д [38].

ДР.2.4.3. Підготовка дезінфікуючих засобів для персоналу

Для гігієнічної обробки шкіри рук працівників підприємства застосовується готовий дезінфікуючий розчин «Сагросепт» (1-пропаноол, 2-пропанол, молочна кислота) виробництва «Schulke & Mayr» (Німечинна) у полімерних флаконах із дозатором об'ємом 1 л. Для обробки рук потрібно використовувати одне натискання на поршень [38].

ДР.2.5. Підготовка ферментатора

Етап підготовки ферментера включає в себе огляд, миття, ополіскування апарату, перевірку на герметичність та його стерилізацію.

ДР.2.5.1. Огляд, миття та ополіскування апарату

Для дезінфекції обладнання будемо використовувати 0,2%-й (2%-й) розчин каустичної соди відповідно до методу обробки. Обладнання після обробки каустичної соди промивають тричі очищеною водою.

ДР.2.5.2. Перевірка на герметичність

У чистий ферментер подається пара під тиском від 0,2 до 0,3 МПа. Якщо на манометрі, протягом 2 годин не реєструється відхилення, то обладнання є справним і допускається до роботи. Якщо реєструється відхилення в тиску, то проводиться додаткова перевірка герметичності трубок та шлангів за допомогою мильного розчину. Робота ферментеру допускається виключно у справному стані та після усунення всіх можливих недоліків, якщо вони були виявлені.

ДР.2.5.3. Стерилізація

| | | | | | | |
|-----|-------|-------------|--------|------|---------------|-------|
| | | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | Аркуш |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | 36 |

Стерилізація ферментера проводиться парою під тиском при 121 °С під тиском 1,5 атмосфер протягом 30 хв.

ДР.2.6. Підготовка приміщень

Підготовка приміщень до виробництва, включає в себе щоденне прибирання та генеральне прибирання.

ДР.2.6.1. Щоденне прибирання

Щоденне прибирання має забезпечувати миття поверхонь усіх виробничих приміщень, для забезпечення чистоти підлоги та повітря. Буде використовуватися розчин «Дескозал» – 5%.

ДР.2.6.2. Генеральне прибирання

Генеральне прибирання проводиться кожен місяць. Буде використовуватися розчин «Дескозал» – 5%.

ДР.3. Підготовка стерильного аераційного повітря

Підготовка стерильного аераційного повітря включає в себе декілька етапів: забір атмосферного повітря, очищення на фільтрі грубої очистки, стиснення повітря, охолодження та видалення вологи з повітря, нагрівання, очищення на головному фільтрі, та очистка на індивідуальних фільтрах.

ДР.3.1. Забір атмосферного повітря

Забір повітря відбувається за допомогою повітрязбірника на висоті приблизно 30 м від найвищої точки будівлі.

ДР.3.2. Очищення повітря від пилу і механічних часток

Відбувається за допомогою фільтру класу G до ступеня очищення 80%. Видаляється основна маса великих частинок пилу діаметром до 150 мкм.

ДР.3.3. Стиснення повітря

Процес стиснення повітря проходить у компресорі за тиску 0,35 МПа, в результаті чого температура повітря підвищується до 120–200 °С.

ДР.3.4. Охолодження повітря та видалення вологи

| | | | | | | | | | |
|-----|-------|-------------|--------|------|--|--|--|--|-------|
| | | | | | | | | | Аркуш |
| | | | | | | | | | 37 |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | | | | |

Охолодження повітря здійснюється за допомогою теплообмінника до температури 25–30 °С, в результаті чого вологість повітря зменшується до 60 %. Сконденсовану вологу видаляємо за допомогою ресивера.

ДР.3.5. Нагрівання повітря

Нагрівання повітря відбувається у теплообміннику до температури 50 °С, в результаті чого вологість повітря зменшується до 50 %.

ДР.3.6. Очищення повітря на головному фільтрі

Очистка повітря проходить на головному фільтрі, який знаходиться поблизу ферментаційних відділень, до ступеня очищення 95 %, Р = на початку 80 Па, а в кінці 450 Па.

ДР.3.7. Очищення повітря в індивідуальних фільтрах

Очистка повітря проходить в індивідуальних фільтрах, до ступеня очистки 99,995 %, Р = на початку 140 Па, а в кінці 600 Па. Відбувається на інокуляторі та ферментері.

ДР.4. Приготування титрувальних розчинів NaOH та стерилізація

Приготування титрувальних розчинів NaOH відбувається відповідно до об'єму середовища, яке необхідно підлучити (табл. 4.1).

Таблиця 4.1

Розрахунок кількості 6 %-го NaOH для підлучення поживного середовища

| Об'єм середовища, яке необхідно підлучити, л | Об'єм 6 %-го NaOH для підлучення, мл | Кількість кристалічного NaOH для підлучення, г | Тара, в якій готується і стерилізується 6 %-й розчин NaOH | Об'єм води, мл |
|--|--------------------------------------|--|---|----------------|
| 6,3 | 12,6 | 0,8 | Колба на 50 мл | 11,8 |
| 62,2 | 124,4 | 7,5 | Колба на 300 мл | 117,1 |
| 611 | 1 222 | 73,3 | Реактор- збірник на 2 л | 1 151 |
| 5 900 | 11 800 | 708 | Реактор- збірник на 15 | 11 115 |

ДР.4.1 Приготування розчину NaOH для контролю рН в інокуляторі на 10 л.

Для корегування рН необхідно приготувати титрувальний розчин з розрахунку 2мл/л культуральної рідини. Приготуємо розчин концентрацією 6%.

Розрахунок об'єму розчину та ваги гідроксиду натрію:

$$6,3 \text{ л} \times 2 \text{ мл/л} = 12,6 \text{ мл}$$

$$m(\text{NaOH}) = \frac{12,6 \times 6}{100} = 0,8 \text{ (г)}$$

Також, необхідно врахувати об'єм солі NaOH. Для цього необхідно визначити коефіцієнт для перерахунку об'єму NaOH відповідно до його густини:

$$k = \frac{968 \text{ г/л}}{1000 \text{ г/л}} = 0,968$$

Таким чином, об'єм 0,8 г NaOH складає:

$$0,8 \times 0,968 = 0,77 \text{ (мл)}$$

Об'єм води, який необхідно додати:

$$12,6 \text{ мл} - 0,8 \text{ мл} = 11,8 \text{ мл}$$

На електронних вагах зважують 0,8 г гідроксиду натрію, наважку вносять в колбу об'ємом 50 мл, та додають 11,8 мл водопровідної води. Закривають колбу ватно-марлевою пробкою, перемішують. Стерилізують в автоклаві при 131 °С та 0,15 МПа упродовж 40 хв.

ДР.4.2 Приготування розчину NaOH для контролю рН в інокуляторі на 100 л.

Для корегування рН необхідно приготувати титрувальний розчин з розрахунку 2 мл/л культуральної рідини. Приготуємо розчин концентрацією 6%.

Розрахунок об'єму розчину та ваги гідроксиду натрію:

$$62,2 \text{ л} \times 2 \text{ мл/л} = 124,4 \text{ мл}$$

$$m(\text{NaOH}) = \frac{124,4 \times 6}{100} = 7,5$$

Об'єм води, який необхідно додати складає:

$$124,4 - (7,5 \times 0,968) = 117,1 \text{ мл}$$

| | | | | | | |
|-----|-------|-------------|--------|------|---------------|-------|
| | | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | Аркуш |
| | | | | | | 39 |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | |

На електронних вагах зважують 708 г гідроксиду натрію, наважку вносять в реактор-змішувач об'ємом 15 л, та додають 11,1 л водопровідної води. Збірник попередньо оснащують сорочкою. Приготований розчин лугу стерилізують гострою парою у збірнику при температурі 131 °С та 0,15 МПа протягом 40 хв.

ДР.5. Приготування та стерилізація поживних середовищ.

ДР.5.1. Приготування та стерилізація середовища для вирощування інокуляту в колбах на качалках.

Для приготування посівного матеріалу на качалочних колбах необхідно приготувати 600 мл поживного середовища. Вміст компонентів для середовища наведено в табл. 4.2

Таблиця 4.2

Розрахунок вмісту компонентів для приготування 600 мл поживного середовища

| Компонент поживного середовища | Концентрація, г/л | Вміст компонента у 600 мл середовища, г | Композиція | Об'єм композиції, мл | Об'єм ємності |
|-----------------------------------|-------------------|---|------------|----------------------|---------------|
| Глюкоза | 25 | 15 | 1 | 200 | 500 мл |
| Вода | | 200 (мл) | | | |
| Дріжджовий екстракт | 10 | 6 | 2 | 200 | 500 мл |
| Вода | | 200 (мл) | | | |
| K ₂ HPO ₄ , | 2 | 1,2 | 3 | 150 | 500 мл |
| KH ₂ PO ₄ | 2 | 1,2 | | | |
| Вода | | 150 (мл) | | | |
| MgSO ₄ | 0,1 | 0,06 | 4 | 50 | 150 мл |
| Вода | | 50 (мл) | | | |

ДР.5.1.1. Підготовка та стерилізація композиції 1

На електронних вагах зважують 15 г глюкози, вносять у колбу об'ємом 500 мл та додають 200 мл дистильованої води, перемішують. Колбу закривають ватно-марлевою пробкою та стерилізують в автоклаві при 112 °С та 0,05 МПа упродовж 30 хв.

| | | | | | | |
|-----|-------|-------------|--------|------|---------------|-------|
| | | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | Аркуш |
| | | | | | | 41 |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | |

Розрахунок вмісту компонентів для приготування 5,7 л поживного середовища

| Компонент поживного середовища | Концентрація, г/л | Вміст компонента у 5,7 л середовища, г | Композиція | Об'єм композиції, л | Об'єм ємності |
|-----------------------------------|-------------------|--|------------|---------------------|---------------|
| Глюкоза | 25 | 143 | 1 | 3,4 | 10 л |
| Вода | | 3 400 (мл) | | | |
| Дріжджовий екстракт | 10 | 57 | 2 | 1,0 | 5 л |
| Вода | | 1 000 (мл) | | | |
| K ₂ HPO ₄ , | 2 | 11,4 | 3 | 0,7 | 1 л |
| KH ₂ PO ₄ | 2 | 11,4 | | | |
| Вода | | 700 (мл) | | | |
| MgSO ₄ | 0,1 | 0,57 | 4 | 0,6 | 1 л |
| Вода | | 600 (мл) | | | |

ДР.5.2.1. Підготовка та стерилізація композиції 1

На електронних вагах зважують 143 г глюкози, вносять у інокулятор об'ємом 10 л та додають 3,4 л дистильованої води. Включають перемішувач та стерилізують при 112 °С та 0,05 МПа упродовж 30 хв.

ДР.5.2.2. Підготовка та стерилізація композиції 2

На електронних вагах зважують 57 г дріжджового екстракту, вносять у реактор-збірник об'ємом 5 л та додають 1 л дистильованої води. Збірник попередньо оснащують сорочкою. Включають перемішувач та стерилізують при 112 °С та 0,05 МПа упродовж 15 хв.

ДР.5.2.3 Підготовка та стерилізація композиції 3

На електронних вагах зважують 11,4 г однозаміщеного фосфату калію, вносять у реактор-збірник об'ємом 1 л. Потім зважують 11,4 г двозаміщеного фосфату калію та вносять у реактор-збірник з однозаміщеним фосфатом калію. Далі додають 700 мл дистильованої води, перемішують. Збірник попередньо оснащують сорочкою. Включають перемішувач та стерилізують при 131 °С та 0,15 МПа упродовж 40 хв.

| | | | | | | |
|-----|-------|-------------|--------|------|---------------|-------|
| | | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | Аркуш |
| | | | | | | 43 |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | |

ДР.5.2.4 Підготовка та стерилізація композиції 4

На електронних вагах зважують 0,6 г сульфату магнію, потім вносять у реактор- збірник об'ємом 1 л. Далі додають 600 мл дистильованої води, включають перемішувач. Збірник попередньо оснащують сорочкою. Стерилізують при 131 °С та 0,15 МПа упродовж 40 хв.

ДР.5.3 Приготування та стерилізація середовища для вирощування інокуляту в інокуляторі на 100 л.

Для приготування посівного матеріалу обсягом 62,2 л, додаємо у інокулятор 6,3 л посівного матеріалу та 56,5 л поживного середовища. Вміст компонентів наведено в таблиці 4.4

Таблиця 4.4

Розрахунок вмісту компонентів для приготування 56,5 л поживного середовища

| Компонент поживного середовища | Концентрація, г/л | Вміст компонента у 56,5 л середовища, г | Композиція | Об'єм композиції, л | Об'єм ємності |
|-----------------------------------|-------------------|---|------------|---------------------|---------------|
| Глюкоза | 25 | 1 412 | 1 | 35 | 100 л |
| Вода | | 35 (л) | | | |
| Дріжджовий екстракт | 10 | 565 | 2 | 11 | 20 л |
| Вода | | 11 (л) | | | |
| K ₂ HPO ₄ , | 2 | 113 | 3 | 5 | 10 л |
| KH ₂ PO ₄ | 2 | 113 | | | |
| Вода | | 5 (л) | | | |
| MgSO ₄ | 0,1 | 5,6 | 4 | 5,5 | 10 л |
| Вода | | 5,5 (л) | | | |

ДР.5.3.1 Підготовка та стерилізація композиції 1

У інокулятор об'ємом 100 л за допомогою об'ємно-вагового дозатора вносять 1 412 г глюкози та додають 35 л дистильованої води. Включають перемішувач та стерилізують при 112 °С та 0,05 МПа упродовж 30 хв.

ДР.5.3.2 Підготовка та стерилізація композиції 2

| | | | | | | |
|-----|-------|-------------|--------|------|---------------|-------|
| | | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | Аркуш |
| | | | | | | 44 |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | |

У реактор-збірник об'ємом 20 л за допомогою об'ємно-вагового дозатора вносять 565 г дріжджового екстракту та додають 11 л дистильованої води. Збірник попередньо оснащують сорочкою. Включають перемішуючий пристрій та стерилізують при 112 °С та 0,05 МПа упродовж 15 хв.

ДР.5.3.3 Підготовка та стерилізація композиції 3

У реактор-збірник об'ємом 10 л за допомогою об'ємно-вагового дозатора вносять 113 г однозаміщеного фосфату калію, додають 113 г двозаміщеного фосфату калію та додають 5 л дистильованої води. Збірник попередньо оснащують сорочкою. Включають перемішуючий пристрій та стерилізують при 131 °С та 0,15 МПа упродовж 40 хв.

ДР.5.3.4 Підготовка та стерилізація композиції 4

У реактор-збірник об'ємом 10 л за допомогою об'ємно-вагового дозатора вносять 5,6 г сульфату магнію та додають 5,5 л дистильованої води. Збірник попередньо оснащують сорочкою. Включають перемішуючий пристрій та стерилізують при 131°С та 0,15 МПа упродовж 40 хв.

ДР.5.4 Приготування та стерилізація середовища для вирощування інокуляту в інокуляторі на 1 000 л

Для приготування 611 л посівного матеріалу вносимо 6,3 л інокуляту з інокулятору на 100 л та додаємо 555 л поживного середовища. Вміст компонентів наведено в таблиці 4.5

Таблиця 4.5

Розрахунок вмісту компонентів для приготування 555 л поживного середовища

| Компонент поживного середовища | Концентрація, г/л | Вміст компонента у 555 л середовища, г | Композиція | Об'єм композиції, л | Об'єм ємності |
|--------------------------------|-------------------|--|------------|---------------------|---------------|
| Глюкоза | 25 | 13 875 | 1 | 350 | 1000 |
| Вода | | 350 (л) | | | |

Продовження таблиці 4.5.

| | | | | | |
|-----------------------------------|-----|---------|---|-----|-----|
| Дріжджовий екстракт | 10 | 5 550 | 2 | 140 | 200 |
| Вода | | 140 (л) | | | |
| K ₂ HPO ₄ , | 2 | 1 110 | 3 | 50 | 100 |
| KH ₂ PO ₄ | 2 | 1 110 | | | |
| Вода | | 50 (л) | | | |
| MgSO ₄ | 0,1 | 55,5 | 4 | 15 | 20 |
| Вода | | 15 (л) | | | |

ДР.5.4.1 Підготовка та стерилізація композиції 1

У інокулятор об'ємом 1 000 л за допомогою об'ємно-вагового дозатора вносять 13,875 кг глюкози та додають 350 л дистильованої води. Включають перемішувач та стерилізують при 112 °С та 0,05 МПа упродовж 30 хв.

ДР.5.4.2 Підготовка та стерилізація композиції 2

У реактор-збірник об'ємом 200 л за допомогою об'ємно-вагового дозатора вносять 5,55 кг дріжджового екстракту та додають 140 л дистильованої води. Збірник попередньо оснащують сорочкою. Включають перемішувач та стерилізують при 112 °С та 0,05 МПа упродовж 15 хв.

ДР.5.4.3 Підготовка та стерилізація композиції 3

У реактор-збірник об'ємом 100 л за допомогою об'ємно-вагового дозатора вносять 1,11 кг однозаміщеного фосфату калію, додають 1,11 кг двозаміщеного фосфату калію та додають 50 л дистильованої води. Збірник попередньо оснащують сорочкою. Включають перемішувач та стерилізують при 131 °С та 0,15 МПа упродовж 40 хв.

ДР.5.4.4 Підготовка та стерилізація композиції 4

У реактор-збірник об'ємом 20 л за допомогою об'ємно-вагового дозатора вносять 55,5 г сульфату магнію та додають 15 л дистильованої води. Збірник попередньо оснащують сорочкою. Включають перемішувач та стерилізують при 131 °С та 0,15 МПа упродовж 40 хв.

ДР.5.5 Приготування і стерилізація поживного середовища в УБС 10 для ферментера 10 м³

| | | | | | | |
|-----|-------|-------------|--------|------|---------------|-------|
| | | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | Аркуш |
| | | | | | | 46 |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | |

Для проведення виробничого біосинтезу, приготуємо 5 900 л культуральної рідини, з якої 555 л посівний матеріал. Отже, необхідно приготувати 5 345 л поживного середовища. Вміст наведено у таблиці 3.6

Таблиця 3.6.

Розрахунок вмісту компонентів для приготування 5 345 л поживного середовища

| Компонент поживного середовища | Концентрація, г/л | Вміст компонента у 5 345 л середовища, кг | Композиція | Об'єм композиції, л | Об'єм ємності |
|-----------------------------------|-------------------|---|------------|---------------------|-------------------|
| Глюкоза | 25 | 133,625 | 5 345 | 5 345 | 10 м ³ |
| Дріжджовий екстракт | 10 | 53,450 | | | |
| K ₂ HPO ₄ , | 2 | 10,69 | | | |
| KH ₂ PO ₄ | 2 | 10,69 | | | |
| MgSO ₄ | 0,1 | 0,535 | | | |
| Вода | | 5 345 (л) | | | |

ДР.5.5.1. Підготовка та стерилізація композиції 1

У реактор об'ємом 10 м³ за допомогою об'ємно-вагового дозатора вносять 133,625 кг глюкози, 53,450 кг дріжджового екстракту, 10,69 кг однозаміщеного калій фосфату, 10,69 кг двозаміщеного калій фосфату та 0,535 кг сульфату магнію. Додають 5 345 л дистильованої води. Вмикають перемішуючий пристрій до повного розчинення компонентів. Отриману композицію подають відцентровим насосом в УБС, де відбувається стерилізація гострою парою за температури 130 °С та 0,15 МПа упродовж 5-7 хвилин.

ТП.6. Підготовка посівного матеріалу

Колекційну культуру *Rhodotorula glutinis* 32 зберігають у пробірках зі скошеним сусло - агаром. Пересіви здійснюють через 2-3 місяці.

ТП.6.1. Підтримання колекційної культури

| | | | | | | | | | |
|-----|-------|-------------|--------|------|--|--|--|--|-------|
| | | | | | | | | | Аркуш |
| | | | | | | | | | 47 |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | | | | |

Колекційну культуру *Rhodotorula glutinis* 32 зберігають у пробірках зі скошеним твердим середовищем СА при температурі 4°C.

ТП.6.2 Отримання робочої культури

Музейну культуру, що зберігається в пробірках зі скошеним СА, пересівають на чашки Петрі для отримання ізольованих колоній і вирощують у термостаті 24 год при температурі 30 °С.

ТП.6.3 Отримання робочої культури на агаризованих середовищах

Ізольовані колонії за допомогою мікробіологічної петлі переносять на 11 потрібних пробірок за скошеним щільним середовищем СА та інкубують у термостаті 24 год при температурі 30 °С.

ТП.6.4. Вирощування культури в колбах на качалках

У колбу з композицією 1 (від ДР 5.1.1) в асептичних умовах вносять композицію 2 (від ДР 5.1.2), композицію 3 (від ДР 5.1.3), композицію 4 (від ДР 5.1.4). У пробірку з робочою культурою *Rhodotorula glutinis* 32, вирощену на СА (від ТП 6.3), вносять 5 мл фізіологічного розчину, суспендують клітини, піпеткою відбирають одержану дріжджову суспензію і переносять у колби. Культуру вирощують у колбах на качалці (250 об/хв) упродовж 24 годин. Періодично (кожні 4 год) відбирають пробу культуральної рідини для визначення концентрації біомаси ($\approx 12,2$ г/л) та здійснюють мікробіологічний контроль.

ТП.6.5. Вирощування культури в інокуляторі об'ємом 10 л.

В інокулятор, об'ємом 10 л інокулятор подають композицію 2 (від ДР 5.2.2), далі композицію 3 (від ДР 5.2.3), і композицію 4 (від ДР 5.2.4). Автоматично рН середовища регулюється до значення 6,0 6 %-м NaOH (від ДР 4.1). Далі через засівну колбу вносять посівний матеріал (від ТП 6.4). Температура культивування становить , 30 °С, швидкість перемішування – 400 об/хв. Тривалість культивування становить 48 год. Періодично (кожні 4 год)

| | | | | | | | | | | | |
|-----|-------|-------------|--------|------|--|--|--|--|--|---------------|-------|
| | | | | | | | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | Аркуш |
| | | | | | | | | | | | 48 |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | | | | | | |

відбирають пробу культуральної рідини для визначення концентрації біомаси ($\approx 12,2$ г/л) та здійснюють мікробіологічний контроль.

ТП.6.6 Вирощування культури в інокуляторі об'ємом 100 л.

В інокулятор, об'ємом 100 л подають композицію 2 (від ДР 5.3.2), далі композицію 3 (від ДР 3.3.3), і композицію 4 (від ДР 5.3.4). Автоматично рН середовища регулюється до значення 6,0 6 %-м NaOH (від ДР 4.2). Далі подають посівний матеріал (через трубу перетискування від ТП 6.5). Температура культивування становить 30 °С, швидкість перемішування – 400 об/хв. Тривалість культивування становить 48 год. Періодично (кожні 4 год) відбирають пробу культуральної рідини для визначення концентрації біомаси ($\approx 12,2$ г/л) та здійснюють мікробіологічний контроль.

ТП.6.7 Вирощування культури в інокуляторі об'ємом 1 000 л.

В інокулятор, об'ємом 1 000 л подають композицію 2 (від ДР 5.4.2), далі композицію 3 (від ДР 5.4.3), і композицію 4 (від ДР 5.4.4). Автоматично рН середовища регулюється до значення 6,0 6 %-м NaOH (від ДР 4.3). Далі подають посівний матеріал (через трубу перетискування від ТП 6.6). Температура культивування становить 30 °С, швидкість перемішування – 400 об/хв. Тривалість культивування становить 48 год. Періодично (кожні 4 год) відбирають пробу культуральної рідини для визначення концентрації біомаси ($\approx 12,2$ г/л) та здійснюють мікробіологічний контроль.

ТП.7 Виробничий біосинтез

ТП.7.1. Вирощування біомаси в основному біосинтезі

У ферментер об'ємом 10 м³ подається простерилізоване в УБС поживне середовище (від ДР 5.5). Автоматично рН середовища регулюється до значення 6,0 6 %-м NaOH (від ДР 4.4). Після цього через трубу перетискування подають посівний матеріал (від ТП 6.7). Температура культивування становить 30°С, швидкість перемішування – 400 об/хв. Тривалість культивування становить 72 год.

| | | | | | | |
|-----|-------|-------------|--------|------|---------------|-------|
| | | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | Аркуш |
| | | | | | | 49 |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | |

Періодично (кожні 4 год) відбирають пробу культуральної рідини для мікробіологічного контролю, визначення концентрації біомаси (12,2 г/л) та концентрація каротиноїдів (70 мг/л).

ТП.8. Зберігання культуральної рідини

ТП.8.1. Зберігання культуральної рідини до етапів виділення та очистки цільового продукту

Культуральну рідину (від ТП 7.1.) за допомогою насосу подають в збірник, де відбувається зберігання, за температури 20°C, до початку стадій очищення продукту.

ЗВ.9. Знешкодження відходів

Знешкодження відходів необхідне для зведення до мінімуму шкоди для навколишнього середовища.

ЗВ.9.1. Знешкодження рідких відходів

Конденсат від ДР.2.5.2., ДР.2.5.3., ДР.3.3., ДР.3.4., ДР.3.5., відпрацьований розчин та вода від ДР.2.5.1., відпрацьовані розчини від ДР.2.6.1., ДР.2.6.2. утилізують, направляючи на очисні споруди.

ЗВ.9.2. Знешкодження повітряних відходів

Відпрацьоване повітря, яке надходить від інокуляторів та ферментера (від ТП 6.5., ТП 6.6., ТП 6.7., ТП 7.1.), відправляють у системи очищення повітряних відходів.

ЗВ.9.3. Знешкодження твердих відходів

Пил і механічні частки з ДР.3.2. направляються на утилізацію.

| | | | | | | | | | |
|-----|-------|-------------|--------|------|--|--|--|--|-------|
| | | | | | | | | | Аркуш |
| | | | | | | | | | 50 |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | | | | |

РОЗДІЛ 5

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ПРОДУКТУ

5.1 Мікробіологічний контроль

Зважаючи на те що культивування дріжджів *Rhodotorula glutinis* 32, для отримання, кормових дріжджів з високим вмістом каротиноїдів, відбувається в асептичних умовах, мікробіологічний контроль виробництва має відбуватися на усіх стадіях технологічного процесу, для впевненості у відсутності контамінації.

Мікробіологічний контроль може здійснюватися мікроскопіюванням. Для цього готують препарат з культуральної рідини. На знежирене предметне скло, стерильно, за допомогою петлі наноситься крапля суспензії. Мазок висушують при кімнатній температурі до повного зникнення вологи. Далі предметне скло поміщають під оптичний мікроскоп. При відсутності контамінації наявні тільки круглі, овальні, або видовженої форми клітини. Характерною особливістю каротиноїдних дріжджів є наявність у клітинах жовтих та червоних плям, що є накопиченими каротиноїдами.

Також, мікробіологічний контроль здійснюється за допомогою висіву на агаризовані середовища СА для виявлення контамінації дріжджами, або грибами та МПА (м'ясопептонний агар) для виявлення контамінації бактеріями. Для цього у чашку Петрі з середовищем стерильно вноситься 0,1 мл культуральної рідини. Потім шпателем Дригальського, стерелізованим фламбуванням, культуральну рідину розподіляють по поверхні агару. Чашки з сусло-агаром інкубують 7 діб при температурі 28 °С. Чашки з МПА 24-48 годин. Після інкубування чашки оцінюються візуально на предмет контамінації. Колонії дріжджів *Rhodotorula glutinis* 32 мають круглу або видовжену форму, гладкі,

| | | | | | | | | |
|-----------|-------|-------------|--------|------|--------------------------------------|------|-------|---------|
| | | | | | Шифр роботи | | | |
| | | | | | | | | |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | | | |
| Розробив | | Степанська | | | РОЗДІЛ 5 КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ПРОДУКТУ | Літ. | Аркуш | Аркушів |
| Перевірив | | Шидловська | | | | Д | 51 | 3 |
| | | | | | КНУТД, ББТ-19 | | | |
| Н.Контр. | | | | | | | | |
| Затвердив | | | | | | | | |

Концентрація біомаси визначається за оптичною густиною, спектрофотометричним методом, на довжині хвилі 500 нм.

При дотриманні норм технологічного процесу, показник концентрації біомаси має дорівнювати 12,2 г/л культуральної рідини, на момент завершення ферментації тривалістю 72 години.

Концентрація каротиноїдів визначається йодометричним методом, основна кількість каротиноїдів синтезується у стаціонарній фазі росту. Концентрація каротиноїдів має бути 70 мг/л культуральної рідини.

Також контролю потребують температура, рН середовища та піноутворення, протягом всієї ферментації. Контроль здійснюється за допомогою, термометру та рН-метру, що занурені у культуральну рідину. Для контролю рН використовується розчин лугу, а для контролю температури сорочка ферментеру. Піногаситель вноситься у ферментер, при активному піноутворенню.

| | | | | | | |
|-----|-------|-------------|--------|------|---------------|-------|
| | | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | Аркуш |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | 53 |

ВИСНОВКИ

У дипломній роботі було проведено дослідження особливостей мікробного культивування дріжджів, зокрема *Rhodotorula glutinis* 32, для отримання каротиноїдних кормових дріжджів. Отримання препаратів на основі біомаси загальноприйнятий та популярний метод отримання кормових дріжджів, в якому часто використовуються різні штами виду *Saccharomyces cerevisiae* та дешеві субстрати. Описане в роботі виробництво каротиноїдних дріжджів штамом *Rhodotorula glutinis* 32 є більш дорогим, ніж *S. cerevisiae*, через використання комерційного середовища. Проте, основною цінністю описаної розробки є високий вплив даного штаму на продуктивність птиці.

Дана робота має перспективи подальших досліджень для удосконалення як і штаму *Rhodotorula glutinis* 32 та розробки нових штамів, так і удосконалення і розробки дешевих поживних середовищ на основі відходів агропромислового комплексу або алкогольної промисловості. Технологія мікробного синтезу каротинмісних дріжджів може бути використана для виробництва натуральних каротиноїдів, що в свою чергу може забезпечити підвищення продуктивності птахівництва, підвищення поживної цінності продуктів птахівництва, а також більш доцільне використання природних ресурсів.

| | | | | | | | | |
|-----------|-------|-------------|--------|------|---------------|------|-------|---------|
| | | | | | Шифр роботи | | | |
| | | | | | | | | |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | | | |
| Розробив | | Степанська | | | ВИСНОВКИ | Літ. | Аркуш | Аркушів |
| Перевірив | | Шидловська | | | | Д | 54 | 1 |
| | | | | | КНУТД, ББТ-19 | | | |
| Н.Контр. | | | | | | | | |
| Затвердив | | | | | | | | |

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Burrells C, Williams PD, Forno PF. Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds. 1. Effects on resistance to disease in salmonids. *Aquaculture*. 2001
2. Bhosale P, Gadre RV (2001) Optimization of carotenoid production from hyper-producing *Rhodotorula glutinis* mutant 32 by a factorial approach. *Lett Appl Microbiol* 33:12–16. doi:10.1046/j.1472-765X.2001.00940.x таблиця з каротиноїдами 32
3. Bhosale P, Gadre RV (2001) β -Carotene production in sugarcane molasses by a *Rhodotorula glutinis* mutant. *J Ind Microbiol Biotechnol* 26:327–332. doi:10.1038/sj.jim.7000138
4. Krinsky N.I., Johnson E.J. Carotenoid actions and their relation to health and disease. *Mol. Asp. Med.* 2005;26:459–516. doi: 10.1016/j.mam.2005.10.001.
5. Frengova G.I., Simova E.D., Pavlova K., Beshkova D.M., Grigorova D. Formation of carotenoids by *Rhodotorula glutinis* in whey ultrafiltrate. *Biotechnol. Bioeng.* 1994;44:888–894. doi: 10.1002/bit.260440804.
6. Mata-Gómez LC, Montañez JC, Méndez-Zavala A, Aguilar CN. Biotechnological production of carotenoids by yeasts: an overview. *Microb Cell Fact.* 2014 Jan 21;13:12. doi: 10.1186/1475-2859-13-12. PMID: 24443802; PMCID: PMC3922794.
7. Li P, Gatlin DM. Evaluation of brewers yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a feed supplement for hybrid striped bass (*Morone chrysops*×*M. saxatilis*) *Aquaculture*. 2003;219:681–692. doi: 10.1016/S0044-8486(02)00653-1.
8. Burrells C, Williams PD, Forno PF. Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds. 1. Effects on resistance to disease in salmonids. *Aquaculture*. 2001;199:159–169. doi: 10.1016/S0044-8486(01)00577-4.

| | | | | | | | | | | |
|-----------|------------|-------------|--------|------|-----------------------------------|--|--|---------------|-------|---------|
| | | | | | Шифр роботи | | | | | |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ | | | | | |
| Розробив | Степанська | | | | | | | Літ. | Аркуш | Аркушів |
| Перевірив | Шидловська | | | | | | | Д | 55 | 5 |
| Н.Контр. | | | | | | | | КНУТД, ББТ-19 | | |
| Затвердив | | | | | | | | | | |

20. Дріжджовий екстракт веб-сайт URL: <https://kiev.prom.ua/ua/p1086437845-ekstrakt-drozhzhej.html> (дата звернення 12.04.2023)

21. Солодовий екстракт веб-сайт URL: <https://prom.ua/ua/p967311397-solodki-ekstrakt-suhij.html> (дата звернення 12.04.2023)

22. Двозаміщений фосфат калію веб-сайт URL: https://snabhim.com.ua/monofosfat-kaliya?gclid=CjwKCAjw3POhBhBQEiwAqTCuBq7C2Uvghty31Lx2cFMfx8PRGhyjOzzmX0Fz7WPDnxCggb1kay81RoCRi0QAvD_BwE (дата звернення 12.04.2023)

23. Амоній сульфат веб-сайт URL: <https://kiev.prom.ua/ua/p1789431608-ammonij-sulfat-sulfat.html?&primelead=MC45NQ> (дата звернення 12.04.2023)

24. Сульфат магнію веб-сайт URL: <https://ahrotsentr.com.ua/ua/p1325625289-sulfat-magniyu-kitaj.html> (дата звернення 12.04.2023)

25. Хлорид феруму веб-сайт URL: https://allhim.kh.ua/p1035428804-zhelezo-hloristoe-vodnoe.html?source=merchant_center&gclid=CjwKCAjw3POhBhBQEiwAqTCuBhQs-zJIG1fXd0IEYg-yefyT1t4K79gV9X-yDtCyHR8s8jane0nBnhoCFPsQAvD_BwE (дата звернення 12.04.2023)

26. Сульфат цинку веб-сайт URL: https://snabhim.com.ua/uk-ua/sulfat-cinka?gclid=CjwKCAjw3POhBhBQEiwAqTCuBhXqwzM4C_wFS2Ttm2kWQ7nFyPhoBSvWNFwg-RLdtOMWI9hP4gJYYRoCEWMQAvD_BwE (дата звернення 12.04.2023)

27. Сульфат марганцю веб-сайт URL: https://klebrig.com.ua/ua/p1521382706-sulfat-margantsa-klebrig.html?source=merchant_center&utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_campaign=Perf_Max-Turboweb&gclid=CjwKCAjw3POhBhBQEiwAqTCuBnqgyePVEtNIXR5MKRszF3

| | | | | | | |
|-----|-------|-------------|--------|------|---------------|-------|
| | | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | Аркуш |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | 57 |

38. Optimised Production and Extraction of Astaxanthin from the Yeast *Xanthophyllomyces dendrorhous*. by Zuharlida Tuan Harith, Micael de Andrade Lima, Dimitris Charalampopoulos and Afroditi Chatzifragkou 19 березня 2020

39. Astaxanthin-producing yeast cells, methods for their preparation and their use: 005972642 United States, опубл. 26 жовтня 1999

| | | | | | | |
|-----|-------|-------------|--------|------|---------------|-------|
| | | | | | ДБП.ПЗ.162.05 | Аркуш |
| | | | | | | 59 |
| Зм. | Аркуш | № Документа | Підпис | Дата | | |



МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНИЙ БІОТЕХНОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

СЕРТИФІКАТ

засвідчує, що

Степанська Діана Богданівна

брав /ла участь у роботі Міжнародної наукової конференції
«АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ БІОТЕХНОЛОГІЇ, ЕКОЛОГІЇ ТА
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ»

27–28 квітня 2023 року, м. Харків, Україна

Голова оргкомітету,
проректор з наукової роботи, професор

Співголова оргкомітету, декан
факультету біотехнологій, професор



Валерій МИХАЙЛОВ

Олена ЩЕРБАК

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

АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ БІОТЕХНОЛОГІЇ, ЕКОЛОГІЇ ТА ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ

МАТЕРІАЛИ МІЖНАРОДНОЇ НАУКОВОЇ КОНФЕРЕНЦІЇ

27-28 квітня 2023 р.

Харків
ДБТУ
2023

| | |
|---|-----------|
| Лазоренко В.В., Гербич К.С., Манжелій А.В. БІОТЕХНОЛОГІЧНЕ ОДЕРЖАННЯ ВІТАМІНУ С ІЗ ВИКОРИСТАННЯМ РЕКОМБІНАНТНИХ ШТАМІВ | 59 |
| Лазоренко В.В., Манжелій А.В. Мироненко Л.С. НИЗЬКОЛАКТОЗНЕ ДІАБЕТИЧНЕ МОРОЗИВО..... | 61 |
| Гербич К.С., Лазоренко В.В. БІОТЕХНОЛОГІЯ ВИРОБНИЦТВА РЕКОМБІНАНТНОЇ ВАКЦИНИ ПРОТИ ВІРУСУ ПАПІЛОМИ ЛЮДИНИ ЗА ДОПОМОГОЮ ШТАМУ <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i>..... | 62 |
| Лаврова І.Ю., Куц М.М., Фесенко І.А. ГІСТОЛОГІЧНІ ПАРАМЕТРИ КЛУБОВОЇ КИШКИ ХВИЛЯСТОГО ПАПУТИ | 63 |
| Паращенко В.А., Шершнев В.П., Куц М.М., Ляхович Л.М. ВПЛИВ ВИКОРИСТАННЯ КОРМОВОЇ ДОБАВКИ ОРЕГАНО НА ЯКІСТЬ ТУШОК КУРЧАТ-БРОЙЛЕРІВ..... | 64 |
| Шершнев В.П., Паращенко В.А., Куц М.М., Бирка О.В. ІНТЕНСИВНІСТЬ РОСТУ КУРЧАТ-БРОЙЛЕРІВ ЗА УМОВИ ВИКОРИСТАННЯ ФІТОБІОТИЧНОЇ КОРМОВОЇ ДОБАВКИ..... | 66 |
| Степанська Д.Б., Волошина І.М. ВИКОРИСТАННЯ АСТАКСАНТИНУ ЯК КОРМОВОЇ ДОБАВКИ У ПТАХІВНИЦТВІ | 67 |
| Ніпот О.Є., Єршова Н.А., Єршов С.С., Чабаненко О.О., Шпакова Н.М. ВПЛИВ АЛЬБУМІНУ НА ЗБЕРЕЖЕНІСТЬ ЕРИТРОЦИТІВ КРОЛИКА В УМОВАХ ДІЇ ПОСТГІПЕРТОНІЧНОГО ШОКУ | 68 |
| Боровкова В.М. РОЛЬ ПРОБІОТИКІВ У ПОСИЛЕННІ НЕСПЕЦИФІЧНОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ ТВАРИН..... | 70 |
| Зорік О.І., Юрко П.С. МАСТИТИ КОРІВ. БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ПІДХОДИ ДО ЛІКУВАННЯ | 71 |
| Воробей А.М., Пирог Т.П., Шевчук Т.А., Леонова Н.О. ІНТЕНСИФІКАЦІЯ СИНТЕЗУ ГІБЕРЕЛІНІВ ПРОДУЦЕНТОМ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН <i>RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS</i> ІМВ АС-5017 ЗА НАЯВНОСТІ ЕРИТРИТОЛУ | 73 |
| Сахно Т.В., Семенов А.О., Sakhno Y.E. ПЕРЕВІРКА ЯКОСТІ ЗМІШУВАННЯ ТА КОНТАМІНАЦІЇ ВЕТЕРИНАРНИХ ПРЕПАРАТІВ ЗА ДОПОМОГОЮ МІКРОТРЕЙСЕРІВ..... | 74 |
| Валявська К.В., Гейсун А.А., Матросов О.С. ВПЛИВ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН НА РЕПРОДУКТИВНУ ФУНКЦІЮ ВЕРМИКУЛЬТУРИ | 76 |
| Дегтярьов І.М., Юрко П.С. ВПЛИВ ЕЙМЕРІОСТАТИКІВ НА БІЛКОВИЙ МЕТАБОЛІЗМ ВИСОКОПРОДУКТИВНИХ КОРІВ | 77 |
| Крикунова В.Ю. ВИЗНАЧЕННЯ СТУПЕНЯ ОДНОРІДНОСТІ ПРЕМІКСІВ ІЗ ВИКОРИСТАННЯМ ФЕРОМАГНІТНИХ МІКРОТРЕЙСЕРІВ | 79 |

3. Михайленко Є.О. та ін. // Біологія тварин. 2016. 18(4):66–71.
4. Степченко Л.М. та ін. // Вісник Дніпропетровського державного аграрного університету. 2012. 2:137–139.
5. Basiouni S. et al. // Vet Sci. 2023. 10(1):55.
6. Chang W.Y. et.al. // Poult Sci. 2022. 101(8):101970.
7. Ziechmann W. Study of huminat on the human Rh line cells: 12th International Peat Congress. Finland. 2004. 2:1205–1208.
8. Stingelin G.M. et.al. // Front Vet Sci. 2023. 9:1046395.

ВИКОРИСТАННЯ АСТАКСАНТИНУ ЯК КОРМОВОЇ ДОБАВКИ У ПТАХІВНИЦТВІ

Д.Б. Степанська, І.М. Волошина

Київський національний університет технологій та дизайну
dianayyyyy@gmail.com

Біологічно активні добавки давно застосовуються у птахівництві, для покращення якості продукції та здоров'я птахів. Астаксантин, синтезований за допомогою мікроорганізмів, або природний, це каротиноїд, який не так давно почали використовувати у птахівництві.

Астаксантин – каротиноїд, один з найсильніших природних антиоксидантів. Він має більш сильні антиоксидантні властивості ніж, вітамін С, вітамін Е та β-каротин [1]. Астаксантин, виявлений у різноманітних мікроорганізмах (наприклад *Phaffia rhodozyma*), міководоростях (*Haematococcus pluvialis*), а також продуктах рослинного та тваринного походження (лосось, криль, птахи). Природний астаксантин, в основному, отримують з морепродуктів [2].

Астаксантин може бути потенційною натуральною добавкою, через його природне походження, антиоксидантні властивості, та покращення імунітету тварин [3].

Попередні дослідження показали, що додавання астаксантину у корм, може покращувати якість яєць у курей та качок [3]. На курей-несушок та пекінських качок астаксантин мав вплив на антиоксидантні ферменти, як мінімум частково, шляхом посилення експресії мРНК генів, що кодують ферменти; та регулював ліпідний обмін у кур-несушок. Астаксантин може індукувати експресію генів антиоксидантів та інгібувати експресію генів апоптозу, під час розвитку ембріонів великої рогатої худоби *in vitro* [4].

Антиоксиданти, в наші дні, отримали велику популярність у птахівництві, яке в значній мірі залежить від окислюваного стресу та якості м'яса [4]. Hosseindoust et al. [5] показали, що додавання астаксантину курчатам-бройлерам (40 або 80 мг/кг) є ефективною стратегією для підвищення загального рівня каротиноїдів у печінці, грудях та стегнах курчат-бройлерів.

Астаксантин є сполукою, що має червоне забарвлення та надає дріжджам та лосося характерний червоний колір. Астаксантин, як кормова добавка частіше використовується у розведенні риби. Зараз астаксантин разом з кантаксантином, це найважливіший та найдорожчий, пігмент у аквакультури для пігментації м'яса лосося форелі та креветок (ці тварин не синтезують астаксантин *de novo*) [4].

Також, каротиноїди в цілому, є основними пігментними сполуками у тварин. Для бройлерів додавання астаксантину може покращувати колір м'яса та зменшити структурні пошкодження травної системи [5]. Збагачені астаксантином харчові добавки надали помітний вплив на продуктивність несушок та якість яєць, особливо на покращення кольору жовтку. Також, харчові добавки збагачені астаксантином, у курей-несушок підвищували вміст імуноглобуліну IgG у сироватці [6].

Існує два джерела астаксантину: хімічний синтез та мікробний синтез [2]. Синтетичний астаксантин має цис-структуру та його біодоступність дуже низька. Природний астаксантин має транс-структуру, що є більш біологічно активною та відносно стабільною молекулою. *Phaffia rhodozyma* є хорошим продуцентом для виробництва кормової добавки, збагаченої астаксантином [2].

Недивлячись, на зростаюче використання астаксантину у птахівництві, рекомендована доза кормової добавки для кур-несушок досі невизначена. Також з літератури відомо [7], що навіть додавання в раціон птиці високого рівню астаксантину (213,4 мг/кг) виділеного з *Haematococcus pluvialis* не чинить негативного впливу на продуктивність кур-несушок. Але спостерігається зниження ефективності астаксантину у забарвленні яєчного жовтку, при додаванні високих доз.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Gao S., Li R., Heng N., Chen Y., Wang L., Li Z., Guo Y., Sheng X., Wang X., Xing K., Ni H., Qi X. // *Poult Sci.* 2020. 99(11):5874-5882. doi: 10.1016/j.psj.2020.08.029.
2. Salatti-Dorado J.A., García-Gómez D., Rodríguez-Ruiz V., Gueguen V., Pavon-Djavid G., Rubio S. // *Food Chem.* 2019. 1; 279:294-302. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.11.132.
3. Ao X., Kim I.H. // *Poult Sci.* 2019. 1; 98(10):4954-4960. doi: 10.3382/ps/pez256.
4. Zhu Y., Yin L., Ge J., Wu X., Peng Y., Zhang T., Jiang M. // *Anim Biosci.* 2021. 34(3):443-448. doi: 10.5713/ab.20.0550.
5. Hosseindoust A., Oh S.M., Ko H.S., Jeon S.M., Ha S.H., Jang A., Son J.S., Kim G.Y., Kang H.K., Kim J.S. // *Antioxidants (Basel).* 2020. 23;9(11):1032. doi: 10.3390/antiox9111032.
6. Magnuson A.D., Sun T., Yin R., Liu G., Tolba S., Shinde S., Lei X.G., // *Algal Research*, 2018. 33:84-90, <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.04.031>.
7. Dansou D.M., Wang H., Nugroho R.D., He W., Zhao Q., Zhang J. // *Animals (Basel).* 2021. 16; 11(4):1138. doi: 10.3390/ani11041138.

ВПЛИВ АЛЬБУМІНУ НА ЗБЕРЕЖЕНІСТЬ ЕРИТРОЦИТІВ КРОЛИКА В УМОВАХ ДІЇ ПОСТГІПЕРТОНІЧНОГО ШОКУ

О.Є. Ніпот, Н.А. Єршова, С.С. Єршов, О.О. Чабаненко, Н.М. Шпакова

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України
nipotel71@gmail.com

Кріоконсервація є методом біотехнології, що має безліч застосувань у різних галузях, а саме, біомедичних дослідженнях, фармацевтичній промисловості, сільському господарстві, ветеринарії. Вона фокусується на зберіганні клітин, тканин, органів та організмів за наднизьких температур з метою збереження їх життєздатності (Bozkurt, 2015). Нині існує багато протоколів кріоконсервації, що розрізняються за кріопротектуючими речовинами, температурою зберігання, швидкістю заморожування/відтавання та іншими параметрами. Успіх кріоконсервації біологічних матеріалів з кожним роком поступово збільшується з розумінням фізико-хімічних процесів, що відбуваються під час циклу заморожування і відтавання. Дослідження низькотемпературного зберігання елементів крові людини в останні роки принесли користь ветеринарній трансфузійній медицині, але довгострокова кріоконсервація еритроцитів тварин ще не була ретельно вивчена. Наявні роботи вказують на неможливість прямого застосування методик консервації еритроцитів людини стосовно клітин тварин і необхідність створення окремих протоколів (Denysova, 2021). Крім того, важливим аспектом є підбір речовин, що проявляють кріопротекторні властивості й, одночасно, є нетоксичними для тварин. Усі ці задачі допомагають вирішити модельні