

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
факультет фармацевтичних технологій та менеджменту
кафедра біотехнології

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему: **«УДОСКОНАЛЕННЯ СКЛАДУ ЛЬОДЯНИКІВ З
ПРОБІОТИЧНОЮ АКТИВНІСТЮ»**

Виконав: здобувач вищої освіти 2 курсу, групи ПБтм21(1,10д)-01а спеціальності 162 Біотехнології та біоінженерія освітньої програми Промислова біотехнологія
Уляна СТАРУЩЕНКО

Керівник: Доцент закладу вищої освіти кафедри біотехнології, к.фарм.н, доцент Ольга КАЛЮЖНАЯ

Рецензенти: Завідувач кафедри заводської технології ліків, д.фарм.н, професор Олена РУБАН

Харків – 2023 рік

АНОТАЦІЯ

В ході проведення комплексу теоретичних, технологічних та біотехнологічних досліджень, розроблено ледяники з пробіотиком двох складів (на основі життєздатних пробіотичних культур *Lactobacillus fermentum* 90-ТЦ та *Lactobacillus plantarum* 8P-A3 та їх метаболітів), які після подальших досліджень можуть бути рекомендовані як біологічно активна добавка для підтримки ротової мікрофлори, стимуляції власного імунітету та як лікувально-профілактичний засіб при інфекційних захворюваннях ротової порожнини та для усунення проблеми галітозу.

Робота складається з вступу, трьох розділів, висновку. Загальний обсяг роботи – сторінок 60, кількість таблиць 7, рисунків 8, джерел літератури 38.

Ключові слова: ледяники, пробіотики, лактобактерії, галітоз, ксиліт, сорбіт.

ANNOTATION

In the course of carrying out a complex of theoretical, technological and biotechnological studies, lozenges with a probiotic of two compositions were developed (on the basis of viable probiotic cultures *Lactobacillus fermentum* 90-TC and *Lactobacillus plantarum* 8P-A3 and their metabolites), which after further research can be recommended as a biologically active supplement to support the oral microflora, to stimulate one's own immunity and as a treatment and prevention tool for infectious diseases of the oral cavity and to eliminate the problem of halitosis.

The work consists of an introduction, three sections, and a conclusion. The total volume of the work is 60 pages, the number of tables is 7, figures are 7, and literature sources are 38.

Key words: lozenges with probiotic, *Lactobacillus*, halitosis.

ЗМІСТ

ВСТУП	4
РОЗДІЛ 1. АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД	9
РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	25
РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА	35
ВИСНОВКИ	46
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	49
ДОДАТКИ	54

ВСТУП

Актуальність роботи. Сьогодні велика кількість продуктів, що містять пробіотики - життєздатні бактерії з доведеною користю для здоров'я, надходить на ринок. Традиційно пробіотики пов'язують із здоров'ям кишечника, і найбільший клінічний інтерес зосереджується на профілактиці або лікуванні шлунково-кишкових інфекцій та захворювань. Однак протягом останніх десятиліть повідомляється про все більшу кількість встановлених позитивних та прогнозованих наслідків для здоров'я пробіотичних бактерій, включаючи посилення адаптивної імунної відповіді, лікування або профілактику інфекцій сечостатевої та дихальних шляхів, а також профілактику або полегшення алергії та atopічних захворювань. Крім цього, розуміння того, що багато захворювань людини можуть бути пов'язані або безпосередньо (наприклад, карієс, пародонтоз і кандидоз порожнини рота), або побічно (серцево-судинні захворювання і, ймовірно, навіть ожиріння) з можливим дисбалансом мікробіому ротової порожнини, сприяло вивченню пробіотиків нового напрямку, а саме продуктів, здатних підтримувати і відновлювати здоров'я мікробіому порожнини рота.

Саме тому наразі мікробіота ротової порожнини активно вивчається, і, навіть, була створена база даних (Human oral microbiome database), в якій містяться відомості про мікроорганізми, що населяють ротову порожнину. Найпоширеніші в ній є представники роду *Streptococcus*, однак на слизовій щік у великій кількості виявляються представники роду *Haemophilus*, у супрагінгівальній дентальній бляшці - актиноміцети, у субгінгівальній бляшці - представники роду *Prevotella*, а традиційні лактобактерії *Lactobacillus spp.* - в основному представники транзиторної мікрофлори.

В аспекті згадування мікроорганізмів ротової порожнини слід відмітити й тісні симбіотичні зв'язки між мікроорганізмами мікробіому та макроорганізму, адже представники нормального мікробіому конкурентно

витісняють або перешкоджають колонізації слизової оболонки патогенною мікрофлорою, що є одним з найважливіших механізмів неспецифічного місцевого імунітету.

Підтримка представників мікробіому ротової порожнини та їх стимулювання є ефективним фактором стримування розвитку патогенних мікроорганізмів, зокрема тих, які викликають ЛОР-захворювання та галітоз. Таким чином, розширення спектра препаратів для лікування ЛОР-захворювань та галітозу можливе за рахунок розробки оромукозних препаратів з пробіотиком.

Метою роботи є вдосконалення складу льодяників з пробіотиком, які були нами раніше розроблені, за рахунок уведення компонентів для лікування галітозу та розробка технології виготовлення.

Для реалізації мети нами було окреслено наступні **завдання**:

1. розглянути теоретичні питання використання пробіотичних культур для лікування інфекційно-запальних захворювань, зокрема для захворювань ротової порожнини;
2. охарактеризувати засоби для профілактики та лікування ЛОР-захворювань та галітозу;
3. обґрунтувати вибір діючих пробіотичних компонентів;
4. обґрунтувати основні та допоміжні компоненти оромукозної форми у вигляді льодяників;
5. визначити можливість сумісного використання обраних діючих компонентів препарату із основними та допоміжними речовинами льодяників;
6. відпрацювати технологію виготовлення льодяників двох запропонованих складів - на основі живих пробіотичних культур та їх метаболітів;
7. визначити показники ефективності для розробленого препарату двох складів.

Об'єктами дослідження були льодяники на основі ксиліту та сорбіту двох складів - на основі живих пробіотичних культур та їх метаболітів.

Методи дослідження. У роботі застосовували класичні мікробіологічні методи та технологічні прийоми для виготовлення льодяників. Методами контролю ефективності зразків обрано: визначення кількості життєздатних лактобактерій при дослідженні їх сумісного використання із компонентами препаратами та кількості життєздатних бактерій у готових оральних пробіотиках методом Коха (метод прямого висівання на чашки) та метод дифузії в агар з визначенням зони затримки росту тест-штамів мікроорганізмів.

Загальна характеристика роботи. Проведені дослідження властивостей пробіотичних штамів *L. fermentum* 90-ТЦ та *L. plantarum* 8P-A3 показали перспективність їхнього застосування у оральному пробіотичному засобі. Також в якості діючих компонентів запропоновано використовувати метаболіти даних штамів та рослинні компоненти, які володіють досить великим антимікробним потенціалом до умовно-патогенних мікроорганізмів, що викликають інфекційні ЛОР-захворювання та галітоз. Приготовлені оральні пробіотичні препарати у вигляді льодяників двох складів - на основі живих лактобактерій та на основі їх метаболітів - показали високу ефективність, виживаємість бактерій та антимікробні властивості, відповідно.

В ході проведення комплексу теоретичних, технологічних та біотехнологічних досліджень, розроблено льодяники з пробіотиком двох складів (на основі життєздатних пробіотичних культур та їх метаболітів), які після подальших досліджень можуть бути рекомендовані як біологічно активна добавка для підтримки ротової мікрофлори, стимуляції власного імунітету та як лікувально-профілактичний засіб при інфекційних захворюваннях ротової порожнини та при галітозі.

Практична значимість роботи. Окремі результати роботи опубліковано у фаховому журналі, представлено на 4 науково-практичних

заходах, у т.ч. 1 закордонній, використовуються при вивченні освітніх компонент «Основи фармацевтичної біотехнології», «Промислова біотехнологія», «Аптечна технологія ліків» та при екстемпоральному виробництві в умовах аптеки «Леда», представлено на Всеукраїнському конкурсі студентських наукових робіт зі спеціальності Біотехнологія та біоінженерія (2021 р., III місце) та Конкурсі наукових робіт «Молода наука Харківщини: вектори розвитку» (2021 р., III місце).

Перелік публікацій:

1. Біотехнологічні дослідження під час розробки льодяників з пробіотиками / У. А. Старущенко, Л. О. Ярова, О. С. Калюжная, Н. В. Хохленкова, О. Б. Калюжний // Вісник фармації. - № 1, 2021. - ISSN: 1562-7241.

2. Перспективність розробки оральних пробіотиків у вигляді льодяників / У. А. Старущенко, О. С. Калюжная // Сучасні виклики і актуальні проблеми науки, освіти та виробництва: міжгалузеві диспути : збірник наукових праць XII Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, 29 січня 2021. - ISSN: 2708-1257.

3. Характеристика засобів для профілактики та лікування ЛОР-захворювань для застосування у педіатричній практиці / У.А. Старущенко, О.С. Калюжная // Topical issues of new medicines development: матеріали XXVIII Міжнародної науково-практичної конференції молодих учених та студентів присвяченої 150-річчю з дня народження М.О. Валяшка (18-19 березня 2021 р., м. Харків). – Харків: НФаУ, 2021. – С. 239 – 240.

4. Удосконалення складу льодяників з пробіотиками / Єфименко М. Т., Старущенко У. А., Науковий керівник: Калюжная О. С. // YOUTH PHARMACY SCIENCE: матеріали II Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю (7-8 грудня 2021), Харків: НФаУ, 2021р – С.239-240.

5. Технологічні аспекти виробництва льодяників з пробіотиками / У. А. Старущенко // YOUTH PHARMACY SCIENCE: матеріали III Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю (7-8 грудня 2022), Харків: НФаУ, 2021р –С.175-176.

Акти впровадження:

1. Біотехнологічні дослідження при розробці оромукозних засобів з пробіотиками. 2021 р., в навчальний процес кафедри біотехнології НФаУ: дисципліни «Основи фармацевтичної біотехнології», «Промислова біотехнологія»

2. Розробка складу та технології льодяників з пробіотиками. 2021 р., в навчальний процес кафедри аптечної технології ліків НФаУ: дисципліни «Аптечна технологія ліків»;

3. Склад і технологія оромукозного засобу з пробіотиком, 2021 р, впроваджено у екстемпоральне виробництво Аптека «Леда».

РОЗДІЛ 1. АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД

1.1 Характеристика мікробіому ротової порожнини в нормі та при патологічних станах

На поверхні шкіри і слизових оболонок у людини завжди присутні різні мікроорганізми, багато з яких знаходяться в симбіотичному зв'язку з макроорганізмом і не викликають патологічних змін колонізованих ними структур. Сукупність даних мікроорганізмів становить нормальну мікробіоту.

Відомо, що якісна і/або кількісна зміна даної мікробіоти (дисбіоз) може бути причиною патологічних станів. Представники нормальної мікробіоти конкурентно витісняють або перешкоджають колонізації слизової оболонки патогенною мікрофлорою, що є одним з найважливіших механізмів неспецифічного місцевого імунітету.

Представників нормальної мікробіоти вже понад сто років використовують для розробки продуктів із пробіотичними властивостями. Серед таких представників найчастіше застосовують бактерії родів *Lactobacillus* та *Bifidobacterium* [4].

Наразі зібрано відомості щодо близько 700 родів мікроорганізмів, які населяють ротову порожнину [6]. Як вже було відмічено, найпоширенішими представниками є бактерії родів *Streptococcus*, *Haemophilus*, *Prevotella* тощо, а лакто- та біфідобактерій, які є традиційними пробіотичним штамми, - значно менше [5, 6].

У ротовій порожнині лактобактерії зазвичай складають менше 1% від загальної мікробіоти. Деякі види зустрічаються як у пероральних, так і у фекальних зразках [7, 8]. Видами, які зазвичай виділяють із зразків слини, є *L. paracasei*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus* та *L. salivarius*.

Біфідобактерії є одними з перших анаеробів у ротовій порожнині [9]. Дійсно, як лактобактерії, так і біфідобактерії можна виявити в грудному молоці, що пояснює раннє обсіменіння ротової порожнини цими бактеріями.

Видами біфідобактерій, що виділені з оральних зразків, є *B. bifidum*, *B. dentium* та *B. longum* [10, 11].

Найбільш логічною стратегією для розробки пробіотичних препаратів є застосування штамів, виділених з їхнього природного місця існування. Саме тому останнім часом для розробки оральних пробіотиків широко застосовують штами *Streptococcus spp.*, зокрема *S. salivarius*, який одним із перших колонізує порожнину рота людини і зберігається там протягом усього життя як домінуючий представник нормальної мікробіоти ротової порожнини [12, 13]. Але, на нашу думку, не варто забувати й про традиційні лактобактерії та біфідобактерії, які хоча й не персистентні в порожнині рота, але значною мірою пов'язані зі стимуляцією імунної системи.

Загальні механізми пробіотиків можна розділити на три основні категорії: нормалізація мікробіоти кишечника, модуляція імунної відповіді та метаболічні ефекти [2]. Механізми дії пробіотиків у ротовій порожнині можуть бути аналогічними описаним для кишечника. Дотепер оральна колонізація пробіотичними бактеріями часто вважалася необхідною для здійснення ними оральних ефектів; однак не можна виключати можливість системних ефектів, хоча загальний рівень секреторного IgA в слині, здається, не залежить від використання пробіотиків [14].

Існуючі дослідження свідчать про те, що споживання продуктів, що містять пробіотичні лактобактерії або біфідобактерії, може зменшити кількість каріогенних стрептококів у слині, зокрема *Streptococcus mutans* [15-17].

Перші дослідження використання пробіотиків для зміцнення здоров'я порожнини рота були для лікування запалення пародонту [18]. Пацієнти з різними захворюваннями пародонту, гінгівітом, пародонтозом отримували місцеве лікування супернатантом культури штаму *L. acidophilus*. Повідомлялося про значне одужання майже кожного пацієнта. Останнім часом також спостерігається значний інтерес до використання пробіотиків для лікування захворювань пародонту. Пробіотичні штами, використані в

цих дослідженнях, - це штами *L. reuteri*, *L. brevis*, *L. casei Shirota*, *L. salivarius* WB21 та *Bacillus subtilis*. *L. reuteri* та *L. brevis* покращують здоров'я ясен, що вимірюється зменшенням кровотечі з ясен [19, 20]. Застосування пробіотичної жувальної гумки, що містить *L. reuteri* ATCC 55730 та ATCC PTA 5289, також знижує рівень прозапальних цитокінів [21], а використання *L. brevis* знижувало активність колагенази та інших маркерів запалення у слині [22]. Встановлено, що використання таблеток, що містять *L. salivarius* WB21, зменшує глибину ясенної кишені, особливо у групах високого ризику, таких як курці, а також впливає на кількість патогенів пародонту у нальоті слини [23].

Подібні дослідження підтверджують вплив складу мікробіоти ротової порожнини на її здоров'я та можливість її коригування пробіотичними штамми лакто- та біфідобактерій.

1.2 Характеристика засобів для профілактики та лікування ЛОР-захворювань для застосування у педіатричній практиці

ЛОР-захворювання поширені у всіх вікових групах, але найбільша захворюваність відзначається в дитячій популяції, що пояснюється морфологічної незрілістю органів ротоглотки і віковою незавершеністю імунологічних функцій дитячого організму. У ранньому віці ЛОР-захворювання проходять з найбільшими ускладненнями, тому необхідно вчасно діагностувати та лікувати захворювання [24]. В лікуванні ЛОР-захворювань використовують засоби та методики, які повинні відволікати дитину від негативних емоцій. Крім цього, у дітей застосування лікарських засобів спричиняє певні фармацевтичні проблеми, які не спостерігаються тією ж мірою у дорослих та поява яких може залежати від віку. Тому у дітей слід застосовувати лікарські засоби, фармацевтичний дизайн яких пристосований для застосування в цільовій віковій групі, тобто педіатричні лікарські засоби, що відповідають віку [25].

Одним із найважливіших питань при розробці педіатричних лікарських засобів є вибір найбільш прийнятної лікарської форми, що відповідає віку.

Серед пероральних засобів, зокрема для лікування та профілактики ЛОР-захворювань, звертає на себе увагу така форма як ледяники, яка має певні переваги, особливо для застосування у педіатрії [26]. Смакова привабливість є одним з основних елементів прийнятності пацієнтом педіатричного лікарського засобу для перорального застосування. Смакова привабливість визначається як загальна оцінка лікарського засобу (зазвичай для перорального застосування) щодо його запаху, смаку, післясмаку і текстури (відчуття у роті). Вона зумовлена характеристиками активної речовини та способу її введення до складу готової лікарської форми [25].

Ледяники відносяться до оромукозних препаратів (препарати для ротової порожнини); це тверді однодозові препарати для смоктання зазвичай з метою одержання місцевої дії в порожнині рота або горла; також їх застосовують для системного ефекту за умови, що препарат добре всмоктується через слизову оболонку щік, або коли його проковтнути. Вони містять одну або більше діючих речовин зазвичай в ароматній і підсолодженій основі та призначені для повільного розчинення або розпаданню у роті під час смоктання [26-30].

Перевагами ледяників є: можливість застосування пацієнтами, які відчувають труднощі при ковтанні; легке введення для геріатричних та педіатричних хворих; хороший комплаєнс пацієнта через приємний смак і зручність введення; не потрібне вживання води для введення; збільшують час перебування діючої речовини в ротовій порожнині, щоб викликати певний ефект; можливий обхід ефекту «першого проходження» через печінку та запобігання пресистемної ліквідації всередині шлунково-кишкового тракту; легкі в приготуванні, тому що потребують мінімальну кількість обладнання і часу; введення ледяників не є інвазивним та не потребує спеціальних навичок, як у випадку з парентеральними препаратами; легкість в транспортуванні [28-30].

Але застосування льодяників має і певні недоліки, одним з яких є те, що вони помилково можуть використовуватись дітьми в якості цукерки. Даний недолік є суттєвим обмеженням застосування льодяників у педіатричній практиці, особливо у випадку використання як діючих речовин анестетиків, анальгетиків, антибіотиків тощо, але у випадку пробіотичних компонентів із доведеною безпечністю для людини, це обмеження не є значущим. Також щодо недоліків льодяників слід зауважити нерівномірне розподілення діючої речовини у слині та випадкове їх проковтування разом із слиною, що є важливим при місцевій терапії [26].

Сьогодні для фармацевтичного застосування використовують: жувальні льодяники на желатиновій або карамельній основі із додаванням збиваючих речовин і зволожувачів для отримання певного ступеня м'якого жування; м'які льодяники (пастилки) на основі натуральних або синтетичних полімерів або гуми і підсолоджувачів; пресованні льодяники на основі цукрів, транспортуючих речовин та наповнювачів, суміш яких після введення діючих речовин піддають прямому пресуванню або вологій грануляції; тверді цукеркові льодяники на основі цукру та інших вуглеводів в аморфному та склоподібному стані, які можна розглядати як застигли сиропи цукрів [26, 27, 31].

До складу льодяників входять речовини, які обумовлюють приємний смак препарату, це, в свою чергу, призводить до позитивного ефекту при лікуванні у дітей. Задовільна прийнятність пацієнтом пероральних педіатричних композицій має першорядне значення, і солодкий смак відіграє у цьому важливу роль. Вибір підсолоджувачів та їх концентрація залежить від властивостей активної речовини та використання ароматизаторів. У педіатричних композиціях, призначених для тривалого застосування, бажано уникати частого вживання та високих доз підсолоджувачів та враховувати їх можливість впливати на біодоступність. Слід ретельно обґрунтувати використання цукрів, що спричиняють карієс [25].

Цукри, що вживаються з їжею, в ротовій порожнині піддаються ферментуванню слиною, в результаті утворюються пропіонова, масляна, мурашина кислоти, що вимивають фтор і кальцій з емалі, а потім і з дентину зуба, в результаті чого в останніх утворюються дефекти. Слід враховувати, що різні за складом цукри впливають на зуби по-різному. Сахароза найбільшою мірою схильна до бродіння, тому з неї утворюється найбільша кількість кислот, які сильно змінюють рН в ротовій порожнині і провокують розвиток карієсу. Глюкоза і фруктоза ферментуються в меншій мірі, але все ж становлять небезпеку для зубів. Ксиліт, маніт і сорбіт перетворюються на фруктозу ферментом, що володіє низькою активністю, тому ці цукри практично не сприяють розвитку карієсу [32].

Іншою важливою причиною розвитку карієсу є наявність каріогенних видів мікроорганізмів, серед яких певні види стрептококів *Streptococcus spp.* (в першу чергу - *S. mutans*, *S. sanguis*, *S. salivarius*) та лактобактерій *Lactobacillus spp.* (наприклад, кількість *L. casei* різко збільшується при карієсі). Ці бактерії ферментують цукри в молочну кислоту, створюючи при цьому кисле середовище, що, в свою чергу, викликає вимивання кальцію з тканин зубної емалі і веде до руйнування поверхні зубів [32, 33].

Тобто, при розробці засобів для профілактики та лікування ЛОР-захворювань для застосування у педіатричній практиці перспективними є льодяники, до розробки складу яких потрібно підходити із особливою увагою через великий вміст цукрів, які викликають руйнування емалі зубів та стимулюють активність каріогенної мікрофлори.

Вищеперелічені факти обумовлюють перспективність у виробництві льодяникової маси використання багатоатомних спиртів ксиліту та сорбіту, які надають засобу приємний солодкий смак, але не можуть ферментуватися бактеріями. Крім цього застосування ксиліту у невеликих дозах призводить до ремінералізації зубної поверхні, відновлення кислотно-лужного балансу у ротовій порожнині, створення умов для пригнічення каріогенної мікрофлори, й, відповідно, до стабілізації власного мікробіому.

В аспекті згадування мікроорганізмів ротової порожнини слід відмітити й тісні симбіотичні зв'язки між мікроорганізмами мікробіому та макроорганізму, адже представники нормального мікробіому конкурентно витісняють або перешкоджають колонізації слизової оболонки патогенною мікрофлорою, що є одним з найважливіших механізмів неспецифічного місцевого імунітету.

Підтримка та стимулювання представників мікробіому ротової порожнини є ефективним фактором стримування розвитку патогенних мікроорганізмів, які викликають ЛОР-захворювання. Розуміння того, що багато захворювань людини пов'язані з виникаючим дисбалансом мікробіому ротової порожнини, сприяло вивченню пробіотиків нового напрямку, які отримали назву оральні пробіотики [34].

Таким чином, розширення спектра препаратів для лікування ЛОР-захворювань, зокрема для педіатричного застосування, можливе за рахунок розробки оромукозних препаратів з пробіотичними компонентами у вигляді льодяників на основі ксиліту та сорбіту.

1.3 Характеристика льодяників, як перспективної форми для лікування ЛОР-захворювань

Кондитерські лікарські форми (від лат. *Conditio* - надати запах, смак, солодкість; приправляти) - це тверді лікарські форми (ЛФ) з великим вмістом цукру або його замінників.

Вони різні за геометричній формі і консистенції, містять лікарську речовину і основу, повільно розчинну в воді. Асортимент кондитерських ЛФ раніше вельми широко був представлений у фармацевтичній практиці, але і в даний час вони в значно зміненому вигляді зберігають своє значення. Здебільшого кондитерські ЛФ містять в якості основи сплав цукру і патоки [9].

Назва цієї групи - кондитерські - умовне і не є фармацевтичним терміном. Сучасний асортимент ЛФ, що входять в дану групу, невеликий:

льодяники, пастилки, жувальні цукерки і гумки. Однак сучасні тенденції у фармацевтичній технології, наприклад, розширення спектра препаратів для лікування ЛОР-захворювань, дозволяють вважати розробку і вдосконалення кондитерських ЛФ досить перспективним напрямком, особливо з урахуванням потреб педіатричної практики. Кондитерські ЛФ вельми популярні у населення і практичних лікарів. Лікарі призначають їх пацієнтам, які не можуть ковтати тверді ЛФ, а також коли потрібно повільне всмоктування лікарських речовин через слизову оболонку порожнини рота і горла [12].

Карамель (Caramel, синонім льодяники, льодяникові таблетки) - тверда дозована ЛФ для розсмоктування з високим вмістом інвертного цукру, являє собою застиглий цукровий сироп у суміші з лікарським засобом і призначена для застосування в ротовій порожнині при лікуванні деяких захворювань порожнини рота, горла або травного тракту [7]. У формі карамелі застосовуються переважно антисептичні (в т. ч. рослинного походження), протимікробні, протигрибкові засоби, які найбільш часто використовують для лікування запальних захворювань горла як ЛЗ анестезуючого або антибактеріального спектра дії [9]. Також сьогодні перспективним є дана ЛФ із пробіотичними компонентами.

До недоліків льодяників відносяться: можливість безконтрольного вживання дітьми, тому на упаковці обов'язкове попереджувальний напис: «берегти від дітей» або «зберігати в недоступному для дітей місці»; льодяники містять цукор, що необхідно враховувати при призначенні їх хворим на цукровий діабет, а також особам, які знаходяться на низькокалорійній дієті, або замінювати їх іншими компонентами [9].

В даний час налагоджено промисловий випуск різноманітних кондитерських ЛФ шляхом лиття в форми, пресування карамельного джгута або за допомогою таблетованих машин. Субстанції, що входять до складу льодяників, повинні бути стійкими при температурі 80-90 °С, так як при більш низькій температурі льодяникова маса застигає і виникає проблема

введення ЛЗ [7]. Але у випадку застосування термолабільних компонентів, наприклад живих мікроорганізмів, можна використовувати захисні речовини або знижувати температури плавлення льодяникової маси додаючи певні компоненти.

Льодяники виробляють зі сплаву цукру або інших вуглеводів з патокою або цукровим сиропом. Карамельну масу уварюють до вологості 0,5-1,5%. Наповнювачі мають зволожуючий ефект і сприятливо впливають при стані сухості і дискомфорту слизової оболонки порожнини рота і запаленого горла. Частина активних речовин може всмоктуватися через слизову оболонку лінгвально і буккально, таким чином оберігаючи діючу речовину від метаболізму в шлунку і кишечнику [19].

Процес виробництва льодяників складається з таких стадій:

1. Виготовлення карамельного сиропу;
2. Отримання льодяникової маси;
3. Охолодження та обробка льодяникової маси;
4. Формування льодяників;
5. Пакування і зберігання.

1. Виготовлення карамельного сиропу.

Карамельний сироп готується різними способами, найпоширеніший, розчинення цукру у водно-паточному розчині під тиском. При підвищенні тиску суміш нагрівається до більш вищих температур. Таким чином скорочується процес розчину цукру в маленькій кількості води та не відбувається розклад цукру до глюкози та фруктози. Просіяний та пропущений через магніт цукор з бункера безперервно дозується в горизонтальний циліндр з паровою сорочкою. Сюди ж безперервно закачується насосами-дозаторами підігріті до 65 °С патока та до 45 °С вода. На кожні 10 кг цукру вводять 5 кг патоки та 1,58 л води. Всередині змішувача розташовані паралельно два горизонтальних вала з лопатями, які встановлені під певним кутом. Вали обертаються на зустріч один одному, таким чином інтенсивно перемішують суміш і пересувають її до виходу. Із

змішувача суміш потрапляє до збірки і безперервно закачується насосом-дозатором в змійовик варильної колонки, яка обігривається парою. У змійовику створюється надлишковий тиск в результаті гідравлічного опору та за рахунок діафрагми, яка встановлена на виході змійовика з колонки. Цукор розчиняється за 90 с. Температура сиропу підвищується до 105 °С, вода випаровується і виходить карамельний сироп, який надходить через фільтр до збірника, звідки насосом подається до наступної стадії.

2. Отримання льодяникової маси.

Для уварювання карамельного сиропу до льодяникової маси використовують вакуумний апарат неперервної дії, який складається з трьох основних частин: нагрівальна, випарна частини та сепаратор-пастка. Карамельний сироп з сиропного баку насосом нагнітається знизу в двійний змійовик варильної колонки під тиском 0,4 МПа. Сироп спочатку піднімається до витків внутрішнього змійовика, потім переходить по вертикальній сполучній трубі в нижній виток зовнішнього змійовика і рухається вгору по виткам. Одночасно в корпус гріючої частини апарату через верхній штуцер подається пара, яка омиває змійовик і конденсується. З змійовика льодяникова маса температурою близько 150 °С переходить по трубопроводу, де підігриває конусну чашу вакуумного апарату, в якому відбувається процес уварювання маси до кінцевої вологості близько 1%, завдяки інтенсивному випарюванню у просторі. З сиропу виділяється вторинний пар, який проходить через пастку в конденсатор, де і відбувається охолодження водою і конденсування. Сепаратор-пастка затримує частинки льодяникової маси. Потрапляючи в конденсатор вторинний пар займає обсяг (1 кг пару займає до 10 м³). Через різке скорочення обсягу виникає розрідження в конденсаторі та вакуумній камері. В конденсаторі утворюються суміш, яка відкачується поршневым вакуумним насосом. При певному накопиченні готової маси у вакуумній камері її час від часу вивантажують. Вакуум дозволяє знизити температуру при варінні

льодяникової маси. Весь процес займає 1,5-2 хв при розрідженні 8-15 кПа, а температура маси при вивантаженні складає 115-120 °С.

3. Охолодження та обробка льодяникової маси.

Льодяникову масу охолоджують до 90 °С в охолоджувальній машині. Саме в процесі охолодження в масу при допомозі дозаторів вводять ароматизатори, лікарняні розчини, пасти, ефірну олію у вигляді розчину. Далі, масу розминають на проминальних транспортерах з ціллю рівномірного розподілення допоміжних розчинів та видалення великих бульбашок повітря. Температура маси вирівнюється та складає 75-80 °С.

4. Формування.

З льодяникової маси формують джгут при температурі 70-80 °С. Для отримання джгута з пластичної маси готують карамельний батон конічної форми на карамелеобкаточній машині, далі з вершини конуса витягують карамельний джгут при температурі маси 75-80 °С. За допомогою джгутовитягувача джгут витягується та калібрується. Для поштучного виготовлення льодяників джгут потрапляє до карамелеформуєчої машини. Основною частиною машини є зубчастий диск з відкидними ножами. Ножі розташовані по всьому колу диска. При обертанні ножі притискаються поступово до дичку і ділять карамельний джгут на окремі льодяники, які потім потрапляють в окремі камери. Для надання форми використовують штампи, які перпендикулярно розташовані у камері. Після надання форми льодяники потрапляють на охолоджуючий транспортер. Льодяники охолоджуються до температури 35 °С до повного затвердіння і піддаються калібруванню, задля створення захисного шару.

5. Зберігання.

Льодяники зберігають в приміщенні у якому контролюється та зберігається температура 15-20°C та вологість 25-35% [15].

1.4. Проблема карієсогенності льодяників

Як вже було відмічено вище, зодовільна прийнятність пацієнтом пероральних педіатричних композицій має першорядне значення, і солодкий смак відіграє у цьому важливу роль. Вибір підсолоджувачів та їх концентрація залежить від властивостей активної речовини та використання ароматизаторів. У педіатричних композиціях, призначених для тривалого застосування, бажано уникати частого вживання та високих доз підсолоджувачів та враховувати їх можливість впливати на біодоступність. Слід ретельно обґрунтувати використання цукрів, що спричиняють карієс [2].

В даний час споживачів хвилює проблема карієсогенності льодяників, отриманих з використанням сахарози. Більшість цукрів (включаючи сахарозу, мальтозу, фруктозу та декстрозу) є карієсогенними.

Карієс зубів - це інфекційне захворювання, яке пошкоджує зуби. Речовини, які не викликають карієсу, не є карієсогенними.

Цукри, що вживаються з їжею, в ротовій порожнині піддаються ферментуванню слиною, в результаті утворюються пропіонова, масляна, мурашина кислоти, що вимивають фтор і кальцій з емалі, а потім і з дентину зуба, в результаті чого в останніх утворюються дефекти. Слід враховувати, що різні за складом цукри впливають на зуби по-різному. Сахароза найбільшою мірою схильна до бродіння, тому з неї утворюється найбільша кількість кислот, які сильно змінюють рН в ротовій порожнині і провокують розвиток карієсу. Глюкоза і фруктоза ферментуються в меншій мірі, але все ж становлять небезпеку для зубів. Ксиліт, маніт і сорбіт перетворюються на фруктозу ферментом, що володіє низькою активністю, тому ці цукри практично не сприяють розвитку карієсу [4].

Відсутність карієсогенності речовини можна визначити за допомогою внутрішньоротового телеметричного методу рН, такого як той, який використовує непрофесійна організація ToothFriendlyInternational. Стандартний метод вимірює рН тромбоцитів принаймні у чотирьох осіб під час прийому досліджуваної речовини або протягом 30 хвилин після прийому

за допомогою електрода, покритого тромбоцитами. Продукти, які не знижують рН тромбоцитів нижче 5,7 за умов тестування, вважаються некарієсогенними.



Рис. 1.1 - Зовнішній вигляд впливання цукрів на зуби.

З метою зниження карієсогенності для отримання льодяників використовують такі цукри, як декстрозу, фруктозу та мальтозу, які мають переваги перед формами на основі сахарози [14, 25]. В цьому випадку можна використовувати кукурудзяний сироп (іноді з високим вмістом фруктози або мальтози). Кукурудзяний сироп запобігає кристалізації декстрози, фруктози або мальтози та поглинає вільну воду в масі цукерки. Але усі ці цукри бродять у роті та можуть призвести до карієсу. Ці цукру також впливають на рівень цукру в крові і обмежено вживаються діабетиками.

Сорбіт та ізомальт — це поліоли, які використовувалися для отримання здоровіших і менш карієсогенних твердих цукерок, ніж звичайні тверді цукерки, виготовлені з сахарози та кукурудзяного сиропу у ваговому співвідношенні 80:20 (на основі сухої речовини). Оскільки обидва підсолоджувача є гігроскопічними та швидко кристалізуються з розплавленого або перенасиченого розчину, необхідно, щоб із ними використовувався додатковий для отримання комерційно прийнятної твердої форми, яка має принаймні таку саму стабільність, холодну текучість і липкість як цукерка, отримана з використанням сахарози та кукурудзяного сиропу при їх масовому співвідношенні 80:20 (у розрахунку на суху

речовину). Поширеною стратегією в даному випадку є використання гідролізату гідрогенізованого крохмалю (HSH), який є сиропом без цукру, що містить поліоли різного молекулярного розміру, найчастіше сорбіт та/або мальтит [10].

Комбінація сорбіту або ізомальту з HSH не призводить до утворення нагрітої, звареної маси, яку можна було б розлити у форми або на плоску чи напівплоску поверхню, де вона затвердіє, або яку можна сформувати за допомогою валка, різак або інший інструмент для формування. Хоча ці поліоли не є карієсогенними та менш калорійними, ніж сахароза, зв'язана з кукурудзяним сиропом, вони можуть викликати шлунково-кишкові розлади.

Недоліком багатьох поліолів є те, що вони викликають розлади шлунково-кишкового тракту. Як правило, продукт не має подразнюючого ефекту на ШКТ, якщо цей продукт або значною мірою всмоктується перед тим, як потрапити в товсту кишку, або проходить через товсту кишку з незначними або без змін кількості, що міститься в спожитому продукті. Ступінь розвитку патологічних відхилень у шлунково-кишковому тракті або розслаблюючого дистресу, який відчуває споживач твердих цукерок, зазвичай залежить від чутливості споживача, конкретного типу поліолу, який використовується в твердому продукті, і кількості використаних цукерок.

Таким чином, існує потреба в створенні твердих цукерок, які містять знижену кількість сахарози, які не викликають розладів шлунково-кишкового тракту, мають знижену карієсогенність (бажано некарієсогенні), і які в той же час мають задовільні органолептичні показники і стабільність при зберіганні [18, 27].

Також прийнятною заміною сахарози вважають такі підсолоджувачі, як ізомальтулоза, трегалоза та еритритол, існують розробки з використанням інуліну (лінійний і розгалужений), декстрину, сукросолоду і полідекстрази.

Ізомальтулоза являє собою цукор, який може бути використаний як об'ємний підсолоджувач для отримання прийнятного твердого льодяника. Ізомальтулоза (називається також палатинозою) є дисахаридом зі зниженим

вмістом глюкози-фруктози, в якому глюкоза і фруктоза з'єднані за допомогою їх відповідних атомів вуглецю в положеннях 1 і 6. У промисловості ізомальтулоза отримують із сахарози шляхом ферментації. Так як ізомальтулоза перетравлюється повільніше, ніж сахароза, вона викликає нижчу глікемічну відповідь, ніж сахароза, і тому її можуть застосовувати діабетики. Ізомальтулоза є дружньою по відношенню до зубів внаслідок повільного перетравлення в роті. Недоліком ізомальтулози є те, що вона дуже швидко кристалізується з перенасиченого розчину або речовини в аморфному склоподібному стані. У цьому випадку необхідний додатковий агент для регулювання кристалізації [22, 29].

Тобто, при розробці засобів для профілактики та лікування ЛОР-захворювань для застосування у педіатричній практиці перспективними є льодяники, до розробки складу яких потрібно підходити із особливою увагою через великий вміст цукрів, які викликають руйнування емалі зубів та стимулюють активність каріогенної мікрофлори. Перспективними для виробництва льодяникової маси є багатоатомні спирти ксиліт та сорбіт, які надають засобу приємний солодкий смак, але не можуть ферментуватися бактеріями. Крім цього застосування ксиліту у невеликих дозах призводить до ремінералізації зубної поверхні, відновлення кислотно-лужного балансу у ротовій порожнині, створення умов для пригнічення каріогенної мікрофлори, й, відповідно, до стабілізації власного мікробіому.

Висновок до розділу 1

На сьогоднішній день більшість пробіотиків, які представлені на ринку, використовуються для нормалізації шлунково-кишкового тракту. Однак розуміння того, що багато захворювань людини можуть бути пов'язані або безпосередньо (наприклад, карієс, пародонтоз, кандидоз порожнини рота, ЛОР-захворювання), або побічно (серцево-судинні захворювання і, можливо, навіть ожиріння) з виникаючим дисбалансом мікробіоти ротової порожнини, сприяло вивчення пробіотиків нового напрямку, а саме продуктів, здатних підтримувати і відновлювати здоров'я мікробіоти порожнини рота. З урахуванням проведеного аналізу розширення спектра препаратів для профілактики та лікування інфекційно-запальних захворювань ротової порожнини можливе за рахунок розробки оромукозних препаратів з пробіотичними компонентами у вигляді ледяників на основі ксиліту та сорбіту.

РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Теоретичне обґрунтування вибору основних та допоміжних компонентів у складі льодяників з пробіотичною активністю

Як пробіотичний компонент для створення оромукозного засобу у вигляді льодяників ми обрали лактобактерії *Lactobacillus fermentum* 90-ТЦ та *Lactobacillus plantarum* 8P-A3, які відносяться до традиційних пробіотичних штамів із доведеною безпечністю для людини, високими імуностимулюючим ефектом на макроорганізм та антагоністичними властивостями по відношенню до умовно-патогенної мікрофлори.

Аналізуючи наявні препарати й технології, ми зустріли відомості про перспективність використання не тільки живих бактерій, а і їх метаболітів, що становлять суміш великої кількості біологічно активних та антибіотикоподібних речовин. Тому ми вирішили працювати у двох напрямках, створити дві серії дослідів. Перша - льодяники із живими пробіотичними культурами, друга - льодяники з їх метаболітами.

Як компоненти для виготовлення льодяникової маси було обрано ксиліт та сорбіт. Ксиліт є сировиною, що останнім часом привертає увагу виробників карамелі завдяки смаку хорошої якості, відчуттю прохолоди при споживанні, низькій теплоті плавлення кристалів, а також ефекту захисту від карієсу. Ми зупинилися на ньому ще через необхідність зниження негативного впливу великої кількості цукру у дитячих формах та необхідності зниження температури плавлення маси під час використання пробіотичних культур. Крім цього, у технології карамелей використання ксиліту полегшує їх забарвлення - додавання барвників у льодяникову масу на основі ксиліту зумовлює яскраве та інтенсивне забарвлення, що важливе для створення привабливої дитячої форми.

Однак під час створення ксилітвмісних карамелей процес кристалізації ксиліту, а саме затвердіння карамелі в початковій стадії в розплавленому стані, відбувається необоротно протягом дуже короткого періоду часу, і як

наслідок, зникає плинність і погіршується технологічність, тому в сучасних практиках застосовують додавання сорбіту до льодяникової основи [35].

Окрім сорбіту, для поліпшення технологічності льодяникової маси, а також для захисту пробіотичної біомаси від негативних впливів температурного чинника та рівномірного розподілення ліофілізованої пробіотичної біомаси, нами було запропоновано додавати гуміарабік (загущувач, що запобігає кристалізації ксиліту, усуває утворення піни та грудок під час додавання пробіотичної біомаси, постає як пребіотичний компонент під час відновлення пробіотичних культур у ротовій порожнині) [36], гліцерин як зволожувач, агент, що знижує в'язкість основи та має захисний та стабілізаційний вплив щодо пробіотичної культури [26, 37], та аскорбінову кислоту як пребіотичний компонент [38], що захищає живі клітини від пошкодження та стимулює активність відновлення живих клітин із льодяника в ротовій порожнині. Для забарвлення льодяників використовували натуральний барвник червоного кольору - ферментований рис.

У роботі застосовували класичні мікробіологічні методи та технологічні прийоми для виготовлення льодяників. Для визначення кількості життєздатних лактобактерій під час дослідження їх сумісного використання із компонентами препаратів та кількості життєздатних бактерій у готових оральних пробіотиках використовували метод Коха (метод прямого висівання на чашки із підрахунком колоній, що виростили, та розрахунком кількості життєздатних клітин). Для визначення антагоністичної активності метаболітів пробіотичних штамів проти умовно-патогенних тест-штамів *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 8739 використовували метод дифузії в агар (метод «колодязів»).

Також використовували культивування пробіотичних культур у рідкому живильному середовищі із подальшою фільтрацією крізь фторопластові фільтри, що зарекомендували себе як перспективні для біотехнологічних

досліджень [39]. Для проведення процесів фільтрації з метою отримання метаболітів культуральної рідини пробіотичних культур використовували фторопластові фільтрувальні елементи, надані за договором про наукове співробітництво кафедрою технології матеріалів Державного біотехнологічного університету.

Роботи щодо розробки складу та технології оромукозного препарату у формі льодяників з пробіотичною активністю двох складів проводили із дотриманням правил асептики в ламінарному боксі кафедри біотехнології НФаУ протягом 2020-2021 рр. Удосконалення складу розроблених складів за рахунок додавання антигалітозних компонентів (ефірних олій м'яти перцевої, імбиру аптечного, китайської кориці, евкаліпту) за вищенаведеною методологією проводили протягом 2021 р. – початок 2022 р.

2.2 Об'єкти досліджень

В якості об'єктів досліджень використовували наступні діючі та допоміжні компоненти:

- пробіотичні культури *Lactobacillus fermentum* 90-ТЦ та *Lactobacillus plantarum* 8P-A3 із колекції мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології НАН України,
- антигалітозні компоненти – ефірні олії м'яти перцевої, імбиру аптечного, китайської кориці, евкаліпту (виробник – Ароматіка, Україна),
- структуроутворювачі льодяникової маси (мають низьку теплоту плавлення кристалів, що важливо для виживання пробіотичних культур, мають антикаріосогенний ефект) – ксиліт (ТМ Total Sweet, виробник - Healthy by Nature LTD, Англія) та сорбіт (виробник – Барвіста, Україна)),
- технологічні компоненти (попереджають утворення грудок і піни при отриманні льодяникової маси, запобігають зацукрюванню, сприяють утворенню стійкої системи при розчиненні ліофілізованої біомаси

лактобактерій та сприяють виживаємості клітин) – гуміарабік та гліцерин (виробник – Хімпостачання, Україна),

- пребіотичний компонент (захищає живі клітини від пошкодження та стимулює активність відновлення живих клітин із льодяника у ротовій порожнині.) – натрію аскорбат (виробник - компанія NutriBiotic Immunity, США),
- льодяники розроблених складів: 1 – на основі живих пробіотичних клітин, 2 – на основі відфільтрованих метаболітів лактобактерій.

До бактерій роду *Lactobacillus* відносять мікроаерофільні, грампозитивні, паличкоподібні, нерухомі, неспороутворюючі мікроорганізми, що не володіють каталазною активністю. Більшість представників роду мають форму прямих паличок із закругленими кінцями, зібраних у ланцюжки різної довжини, або розташовані поодинокі або попарно.

Lactobacillus fermentum 90-ТЦ

Культура *L. fermentum* представлена сумішшю коротких і довгих паличок довжиною 0,9 мкм.

Lactobacillus fermentum 90 ТС-4 використовується для виробництва фармацевтичних препаратів, пробіотиків у формі біологічно активних добавок до їжі та продуктів харчування. Спочатку цей штам виділено на кафедрі мікробіології Тартуського державного університету (Естонія) від здорової людини. В результаті вивчення біологічних властивостей встановлено його приналежність до виду *L. fermentum*. Штам відрізняється технологічністю, виявляє виражений антагонізм проти патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів, але докладне вивчення штаму та його властивостей раніше проводили лише з використанням фенотипічних методів. Пізніше до комплексу методів, що використовуються для вивчення та контролю виробничих та перспективних для виробництва штамів, введено методики, що ґрунтуються на вивченні окремих генетичних детермінант, що відповідає вимогам МУК 4.2.2602-101 та МУ 2.3.2.2789-102. Згідно з цими

нормативними документами, для забезпечення безпеки та придатності пробіотиків їх штами-продуценти мають бути вивчені з використанням сучасних молекулярно-генетичних методів для підтвердження відсутності трансмісивних генів антибіотикорезистентності, генів вірулентності, острівців патогенності та інтегрованих [14, 28]. Але й такий підхіднині не є достатнім для характеристики про біотичних штамів. NGS секвенування геному штаму дозволяє провести поглиблений аналіз і не тільки встановити наявність або відсутність детермінант, перерахованих вище, та їх геномний контекст, а й вивчити інші ділянки геному, наприклад, CRISPR-локус, аналіз якого дозволить зробити висновок про взаємодію клітин зазначеного штаму з фагами в минулому та виявити детермінанти, перспективні для внутрішньовидового типування. У пробіотичних штамів роду *Lactobacillus* безперечний інтерес також представляють детерміновані в геномі шляхи транспорту та метаболізму цукрів, оскільки їхня класична мікробіологічна ідентифікація заснована саме на цукролітичних властивостях [8].

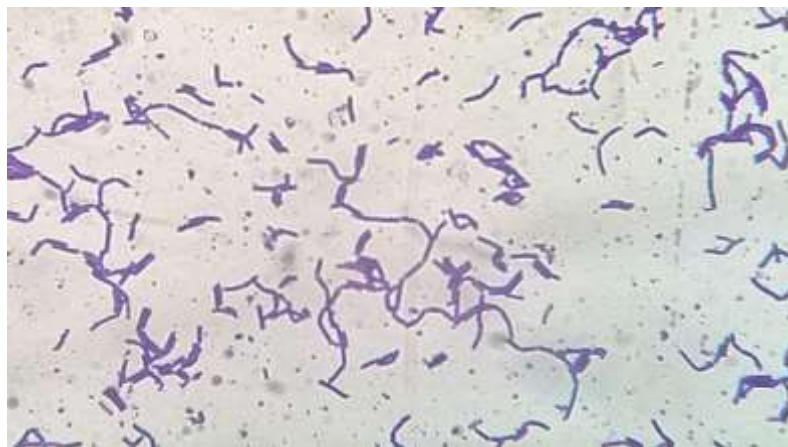


Рис. 2.1. – Мікроскопія *Lactobacillus fermentum* (зabarвлення за Грамом)

Для вирощування культур бактерій роду *Lactobacillus* використовували модифіковані живильні середовища МРС: напіврідке, що містить 0,15 % агару (МРС-2) і щільне, що містить 2% агару (МРС-4). Склад середовища МРС, г/л: пептон - 10,0; дріжджовий екстракт – 20,0; глюкоза – 20,0; Твін-80 - 1,0; дикаліюгідрофосфат - 2,0; натрію ацетат – 5,0; тріамонію цитрат - 2,0;

магнію сульфат – 0,2; марганцю сульфат ($\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) - 0,05; м'ясна вода – до 1 л; рН – $6,2 \pm 0,1$.



Рис. 2.2. – Морфологія колоній *Lactobacillus fermentum* на агаризованому живильному середовищі

Lactobacillus plantarum 8P-A3 ростуть при температурі від 15 до 45 °С. Оптимальною для росту -30 °С.



Рис. 2.3. –Зовнішній вигляд *Lactobacillus plantarum* під мікроскопом.

Для вирощування нативної культури лактобацил *L. plantarum* використовували рідке живильне середовище, що містить пептон, дріжджовий екстракт, вітаміни (B1, B5), глюкозу, стимулятори росту (гемін та сульфат натрію), сіль (хлорид натрію), твін-80. Вирощування лактобацил у рідкому живильному середовищі проводили при температурі 37 °С в системі

для анаеробного культивування протягом 72 год. Через певні проміжки часу зростання культури відбирали зразки для визначення кількості мікроорганізмів в одиниці обсягу, вивчення антибактеріальної активності, а також для проведення аналітичних досліджень [4, 30].



Рис. 2.4 – Морфологія колоній *Lactobacillus plantarum* на агаризованому живильному середовищі

Ефективними протигалітозними компонентами є засоби рослинного походження, зокрема ефірна олії м'яти перцевої, імбиру аптечного, китайської кориці, евкаліпту.

Ефірна олія евкаліпту. Евкаліптол - монотерпен 1,8-цинеол - основний компонент ефірної олії евкаліпта. Активний відносно грампозитивних і грамнегативних бактерій, деяких вірусів, найпростіших і грибів. Покращує дренажну функцію миготливого епітелію дихальних шляхів і полегшує утворення і виділення мокротиння. При нанесенні на шкіру виявляє протисвербіжну та місцевопоздразнювальну дію. 1,8-цинеол метаболізується в печінці до гідроксильованих похідних, які сполучаються з глюкуроною кислотою.

Ефірна олія м'яти перцевої має подразнювальні, антисептичні та анестезуючі властивості завдяки комплексу біологічно активних речовин, головним чином ментолу, який належить до групи терпенів.

Ментол стимулює температурні рецептори слизових оболонок і шкіри, викликаючи відчуття охолодження, рефлекторне звуження судин, відчуття печіння і подальшу легку анестезію.

Відвар м'яти ерцевої використовують для полоскання рота при неприємному запаху з рота, у ваннах і як припарки при свербінні, нейродерміті та екземі. Листя м'яти також прикладають до чола при сильних головних болях, а її сік використовують як мазь для шкіри, пошкодженої поверхневими грибковими інфекціями. Препарати м'яти стимулюють секрецію травних залоз, перистальтику, підвищують апетит, знімають спазм кишечника, жовчовивідних шляхів і сечовипускального каналу, підвищують жовчоутворювальну функцію печінки і виділення жовчі в дванадцятипалу кишку, мають седативну і легкугіпертензивну дію. Ментол використовується як легкий рефлекторний судинорозширювальний засіб при захворюваннях, пов'язаних зі стенокардією та спазмами судин головного мозку [14, 19, 21].

Аптечний імбир має широкий антибактеріальний спектр і зменшує подразнення горла.

Він також зменшує запалення горла і має анестезуючі властивості. Тому одне з основних застосувань імбиру - профілактика і лікування застуди.

Його використовують для профілактики та лікування застуди. Корінь імбиру має протизапальні властивості, підвищує імунітет і захищає організм від грибків, підвищує імунітет і захищає організм від грибків і паразитів.

Китайська кориця має антисептичну дію, ефективний проти різних грампозитивних і грамнегативних бактерій та віруси. Кора кориці має медичне значення і внесена до Британської трав'яної фармакопеї та Японської трав'яної фармакопеї. Вона також занесена до Британської трав'яної фармакопеї і використовується в європейській медицині. Медичні дослідження показали, що сильний бактерицидний ефект кориці досягається завдяки наявності евгенолу, ефірної олії кориці. Евгенол – це ефірна олія кориці. Цей компонент має анестезуючі та знеболювальні властивостями. Особливо ефективно олія кориці проти патогенних грибів роду *Candida*.

2.2 Методи досліджень

Роботи з розробки складу та технології оромукозного засобу у вигляді льодяників з пробіотичною активністю проводили із дотриманням правил асептики у ламінарному боксі кафедри біотехнології (рис. 2.5).



Рис. 2.5 – Робота над розробкою льодяників на основі пробіотиків на кафедрі біотехнології

У роботі застосовували класичні біотехнологічні методи та технологічні прийоми:

1. забарвлення за Грамом - для вивчення мікроскопічних властивостей пробіотичних бактерій: штамів *Lactobacillus fermentum* 90-ТЦ та *Lactobacillus plantarum* 8Р-АЗ, що пропонуються для створення препарату, та для дослідження пробіотичних штамів готових оральних пробіотиків;

2. визначення кількості бактерій за методом Коха - для вивчення кількості життєздатних лактобактерій при дослідженні їх сумісного використання із компонентами препаратами та кількості життєздатних бактерій у готових оральних пробіотиках;

3. метод дифузії в агар - для визначення антагоністичної активності штамів та їх метаболітів проти умовно-патогенних тест-штамів;

4. методи культивування у рідкому живильному середовищі із послідуною фільтрацією скрізь фторопластові фільтри, які зарекомендували себе, як перспективні для біотехнологічних досліджень.

У роботі для вивчення антимікробних властивостей як тест-штами використовували:

- *Candida albicans* (модельна культура – представник дріжджоподібних грибів);
- *Staphylococcus aureus* (модельна культура – представник грампозитивних мікроорганізмів);
- *Escherichia coli* (модельна культура – представник грамнегативних мікроорганізмів);
- *Pseudomonas aeruginosa* (модельна культура - представник грамнегативних паличковидних неспороносних бактерій).

Для проведення процесів фільтрації з метою отримання метаболітів культуральної рідини пробіотичних культур використовували фторопластові фільтруючі елементи (мембрана - товщина 0,1 мм, розмір пор - 1 мкм) (рис. 2.6).



Рис. 2.6 - Фільтрація культуральної рідини пробіотичних культур крізь фторопластові фільтри в ламінарному боксі

РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРЕМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

3.1 Вивчення можливості сумісного використання пробіотичних культур із допоміжними компонентами

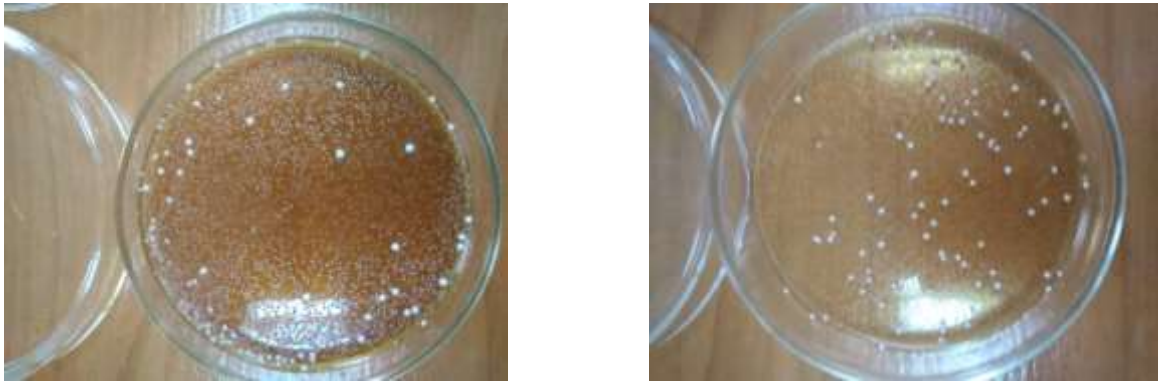
На першому етапі роботи вивчали можливості сумісного використання пробіотичних культур із компонентами, що їх було обрано для використання для складу оромукозного препарату у формі ледяників (ксиліт, сорбіт, гуміарабік, аскорбат натрію, протигалітозні компоненти, ферментований рис). Для цього проводили культивування штамів *L. fermentum* та *L. plantarum* у рідкому середовищі МРС із додаванням відповідних компонентів ледяникової маси протягом 48 год за температури 37 °С. Після сумісного культивування у кожному досліді визначали кількість клітин за методом Коха. Результати дослідів порівнювали з контролем (із тим же вмістом початкової посівної дози без додавання компонентів). Якщо кількість бактерій у досліді була не менше, ніж у контролі, то можна стверджувати про відсутність негативного впливу компонентів на пробіотичні культури та можливість їх використання у складі препаратів. Етапи проведення дослідження цієї серії дослідів проілюстровано на рис. 3.1 (А-В).



А



Б



В

Рис. 2.1 - Етапи проведення дослідження сумісного використання пробіотичних культур із компонентами льодяникової маси:

А - сумісне культивування пробіотичних культур у рідкому живильному середовищі МРС разом із компонентами льодяникової маси

Б - висівання культуральної рідини пробіотичних культур (певного розведення), вирощених при додаванні компонентів, на поверхню агаризованого середовища

В - колонії пробіотичних культур після сумісного культивування із компонентами (найменше розведення; для підрахунку використовували розведення, при яких на чашці Петрі виросло до 50 колоній)

Результати вивчення можливості сумісного використання пробіотичних культур *L. fermentum* 90-ТЦ та *L. plantarum* 8Р-А3 із компонентами льодяникової маси наведено в таблицях 3.1 та 3.2, відповідно.

Таблиця 3.1 - Результати вивчення можливості сумісного використання
L. fermentum 90-ТЦ із компонентами льодяників

№	Компонент	Початкова посівна доза, КУО*/мл	Кількість мікроорганізмів, КУО/мл
<i>L. fermentum</i> 90-ТЦ			
1	Структуруючий - ксиліт	(0,58±0,30)×10 ³	(4,06±0,21)×10 ⁸
2	Структуруючий - сорбіт		(6,28±0,18)×10 ⁸
3	Пребіотичний та технологічний компонент - гуміарабік		(5,30±0,11)×10 ⁹
4	Пребіотичний компонент - натрію аскорбат		(3,79±0,12)×10 ⁹
5	Барвник ферментований рис		(4,17±0,09)×10 ⁸
	Антигалітозні компоненти – ефірні олії:		
6	Евкалипту		(1,19±0,05)×10 ⁷
7	М'яти перцевої		(2,25±0,28)×10 ⁶
8	Імбиру аптечного		(3,59±0,08)×10 ⁸
9	Кориці китайської		(3,48±0,30)×10 ⁸
10	Контроль	(3,15±0,1)×10 ⁸	

Примітки: * КУО - колонієутворювальні одиниці; n = 5, p = 95.

Таблиця 3.2 - Результати вивчення можливості сумісного використання
L. plantarum 8P-A3 із компонентами льодяників

№	Компонент	Початкова посівна доза, КУО*/мл	Кількість мікроорганізмів, КУО/мл
<i>L. plantarum</i> 8P-A3			
11	Структуруючий - ксиліт	$(0,75 \pm 0,20) \times 10^3$	$(1,48 \pm 0,20) \times 10^8$
12	Структуруючий - сорбіт		$(5,94 \pm 0,17) \times 10^8$
13	Пребіотичний компонент - гуміарабік		$(1,78 \pm 0,22) \times 10^9$
14	Пребіотичний компонент - натрію аскорбат		$(1,89 \pm 0,42) \times 10^9$
15	Барвник - ферментований рис		$(2,46 \pm 0,11) \times 10^7$
16	Антигалітозні компоненти – ефірні олії:		
17	Евкалипту		$(2,15 \pm 0,10) \times 10^6$
18	М'яти перцевої		$(1,70 \pm 0,10) \times 10^6$
19	Імбиру аптечного		$(1,98 \pm 0,10) \times 10^7$
20	Кориці китайської		$(2,99 \pm 0,10) \times 10^7$
21	Контроль		$(1,76 \pm 0,10) \times 10^7$

Примітки: * КУО - колонієутворювальні одиниці; n = 5, p = 95.

Порівняння результатів, наведених у таблицях 3.1 та 3.2, показує, що в дослідах із сумісними культурами пробіотичних культур та інгредієнтів – структуруючів кількість клітин була не меншою, ніж у контролі, що свідчить про можливість їх спільного використання у складі цукерок проти галітозу. Додавання гуміарабіку та аскорбату натрію також значно збільшило проліферацію клітин, що доводить його потенційне використання як пребіотичного інгредієнта. При сумісному використанні таких антигалітозних компонентів, як ефірних олій м'яти перцевої та евкалипту спостерігалось зниження кількості життєздатних клітин лактобактерій, що обумовило їх виключення із подальших досліджень. А ефірні олії імбиру

аптечного та кориці китайської не викликали зниження клітин пробіотичних культур, що робить їх перспективними для використання у складі однієї лікарської форми.

Для другої серії льодяників ми припускали використовувати не живі культури, а їх метаболіти. Для цього вирощували пробіотичні культури протягом 72 год за температури 37 °С та відфільтровували крізь фторопластові фільтрувальні елементи. Отриманні таким чином розчини метаболітів перевіряли на наявність або відсутність антимікробних властивостей щодо умовно-патогенних штамів та представників нормальної мікрофлори методом дифузії в агар за зонами затримки зростання культур. Етапи проведення дослідження цієї серії дослідів проілюстровано рис. 3.2 (А-Г).



А



Б



Рис. 3.2 - Етапи проведення визначення антимікробних властивостей метаболітів пробіотичних культур:

А - отримання метаболітів пробіотичних культур,

Б - додавання метаболітів у лунки,

В - вплив метаболітів на пробіотичні культури (відсутність зон затримки росту показує відсутність антимікробного впливу на представників нормофлори)

Г - вплив метаболітів на тест-культури (наявність зон затримки росту показує наявність антимікробного впливу на представників нормофлори)

Таблиця 3.3 - Результати визначення антимікробних властивостей метаболітів пробіотичних культур

№	Тест-культури	Зона затримки росту, мм
Метаболіти <i>L. fermentum</i> 90-ТЦ		
1	<i>C. albicans</i> ATCC 10231	18,0±0,5
2	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	18,5±0,5
3	<i>E. coli</i> ATCC 8739	11,0±0,6
4	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	17,6±0,5
5	<i>L. fermentum</i> 90-ТЦ	-
6	<i>L. plantarum</i> 8P-A3	-
Метаболіти <i>L. plantarum</i> 8P-A3		
7	<i>C. albicans</i> ATCC 10231	15,0±0,5
8	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	19,1±0,5
9	<i>E. coli</i> ATCC 8739	17,0±0,7
10	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	19,6±0,5
11	<i>L. fermentum</i> 90-ТЦ	-
12	<i>L. plantarum</i> 8P-A3	-

Примітка: n = 5, p = 95.

Результати цієї серії дослідів (табл. 3.3) довели наявність антимікробних властивостей метаболітів пробіотичних культур *L. fermentum* 90-ТЦ та

L. plantarum 8P-A3 щодо штамів умовно-патогенних мікроорганізмів та відсутність негативного впливу на власне пробіотичні культури, що, своєю чергою, свідчить про перспективність застосування метаболітів у складі оромукозних препаратів.

3.3 Відпрацювання технології виробництва льодяників з пробіотиками

За теоретичними дослідженнями та власними попередніми дослідженнями нами було запропоновано два склади льодяників - на основі живих пробіотичних культур (ліофілізованої біомаси *L. fermentum* 90-ТЦ та *L. plantarum* 8P-A3 у співвідношенні 1:1 загальною кількістю бактерій 1×10^{10} КУО/мл) та на основі їх метаболітів (розчин метаболітів *L. fermentum* 90-ТЦ та *L. plantarum* 8P-A3 у співвідношенні 1:1).

Компоненти льодяників обирали за показниками якості, запропонованими нами для стандартизації препарату: органолептичні властивості (зовнішній вигляд, смак, клейкість); середня маса і відхилення від неї; вологість; розпадаємість; відсутність сторонньої мікрофлори; кількість життєздатних лактобактерій.

Оромукозний препарат у формі льодяників із обраними компонентами (склад 1) виготовляли за наступною технологією (рис. 3.3):

- плавили композицію на основі ксиліту (80 мас. %) з доданим до неї сорбітом (4 мас. %) (температура 100-110 °С);

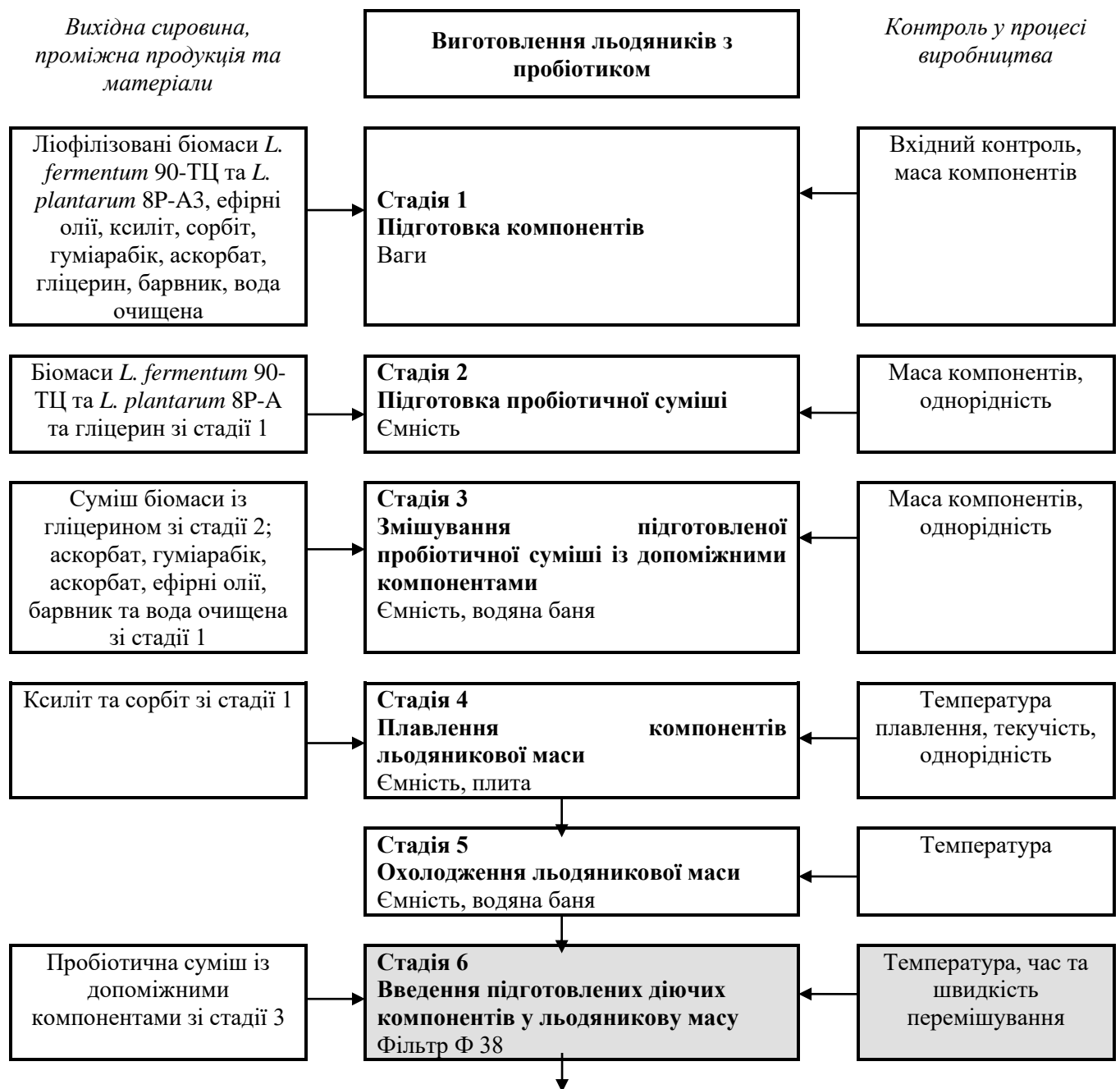
- охолоджували композицію до температури нижче температури плавлення (температура 80-90 °С), після чого кристали ксиліту відділялися осадженням, і отримували текучу суспензію;

- змішували аскорбінову кислоту (1 мас. %) із пробіотичною біомасою (1,2 мас. % г), попередньо змішаної з гліцерином (0,4 мас. %) у співвідношенні 3:1, гуміарабіком (1 мас. %), ефірними оліями імбиру аптечного (0,25 мас. % г) та кориці китайської (0,25 мас. % г) та барвником

(0,5 мас. %) та розчиняли у теплій воді до однорідної консистенції (температура 30 °С);

- додавали отриману суспензію у підготовлену льодяникову масу на стадії охолодження (50-60 °С) при ретельному та швидкому перемішуванню для зменшення часу контакту діючих компонентів та попередження кристалізації цукрів;

- розливали композицію у силіконові форми з подальшим охолодженням для затвердіння (20 °С).



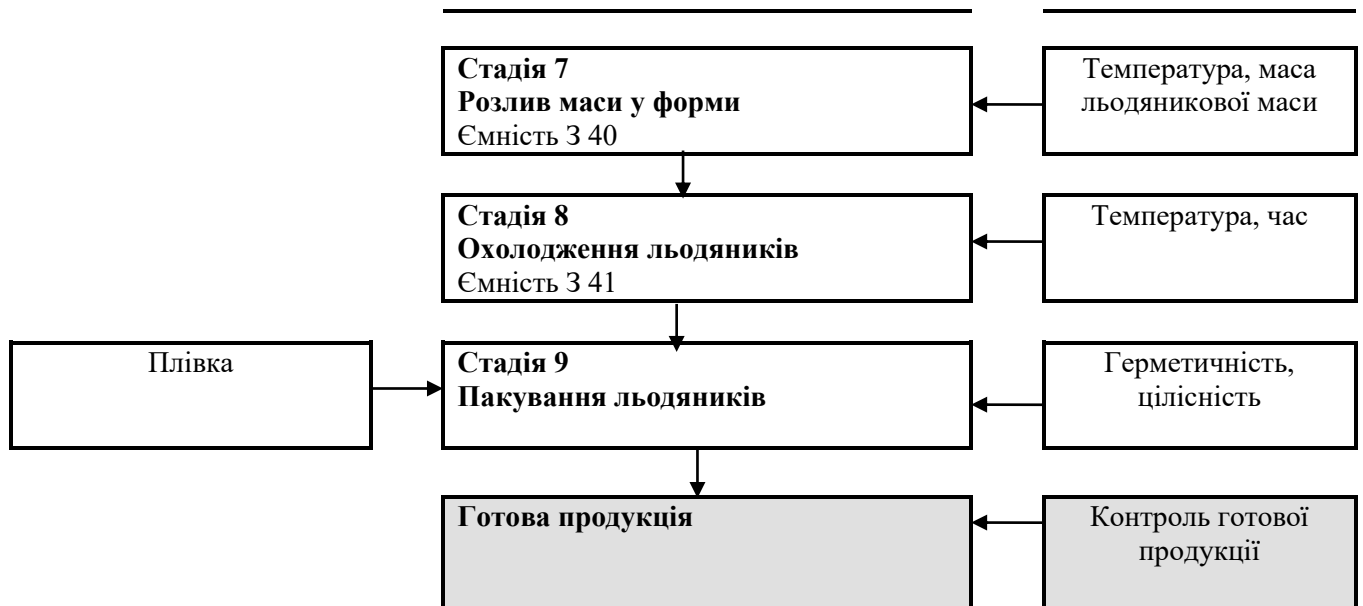


Рис. 3.3 - Технологічна схема виробництва льодяників з пробіотичною активністю

При виготовленні препарату складу 2 на стадії змішування підготовленої суміші із допоміжними компонентами змішували аскорбінову кислоту (1 мас. %) із розчином метаболітів (9 мас. % г), попередньо змішаного з гліцерином (3 мас. %) у співвідношенні 3:1, гуміарабіком (1 мас. %), барвником (0,5 мас. %) та розчиняли у теплій воді до однорідної консистенції (температура 30 °С); інші стадії відповідали попередній технології.

3.4 Визначення деяких показників ефективності розроблених льодяників

Стандартизацію розроблених льодяників проводили за такими показниками якості:

- органолептичні властивості (зовнішній вигляд, смак, клейкість);
- середня маса і відхилення від неї; однорідність вмісту (за кількістю життєздатних бактерій) та маси;
- розчинення;
- відсутність сторонньої мікрофлори;

- кількість життєздатних лактобактерій.

Ефективність розроблених льодяників оцінювали за збереженням властивостей розробленого продукту, а саме: загальної кількості життєздатних клітин - для складу 1 та антимікробних властивостей - для складу 2. Перед визначенням готові льодяники подрібнювали, розчиняли в теплій стерильній воді (10:1) та проводили дослідження. Результати визначення ефективності розроблених льодяників складу 1 та складу 2 наведено в табл. 3.4 та 3.5, відповідно.

Таблиця 3.4 - Кількість життєздатних клітин у розроблених льодяниках (склад 1)

№	Назва зразку	Початкова доза мікроорганізмів, КУО/мл	Загальна кількість мікроорганізмів у льодяниках, КУО/мл
1	Льодяники склад 1	1×10^{10}	$(6,50 \pm 0,1) \times 10^9$

Примітка: n = 5, p = 95.

Результати досліджень табл. 3.4 свідчать про деяке зниження кількості мікроорганізмів у льодяниках, але із збереженням ефективної дози (1×10^{10} КУО/мл).

Таблиця 3.5 - Антимікробні властивості льодяників (склад 2)

№	Тест-культури	Зона затримки росту, мм
1	<i>C. albicans</i>	$15,0 \pm 0,7$
2	<i>S. aureus</i>	$14,5 \pm 0,5$
3	<i>E. coli</i>	$9,0 \pm 0,6$
4	<i>P. aeruginosa</i>	$14,6 \pm 0,5$

Примітка: n = 5, p = 95.

Результати досліджень табл. 3.5 засвідчують збереження антимікробних властивостей льодяників із метаболітами пробіотичних культур.

Висновок до розділу 3

Таким чином, у ході проведення комплексу теоретичних, мікробіологічних та технологічних досліджень, було розроблено оромукозну форму з пробіотиком у вигляді льодяників двох складів (на основі життєздатних пробіотичних культур та їх метаболітів), яку після проведення хіміко-фізичних досліджень та визначення її безпечності може бути рекомендовано як біологічно активну добавку для підтримки ротової мікрофлори, стимуляції власного імунітету та як лікувально-профілактичний засіб при інфекційних захворюваннях ротової порожнини, включаючи проблеми галітозу, для застосування як у дорослих, так і у дітей.

ВИСНОВКИ

1. У роботі розглянуто теоретичні питання використання пробіотичних культур для лікування інфекційно-запальних захворювань, зокрема для захворювань ротової порожнини та проблем галітозу. Показано, що лікування інфекційно-запальних захворювань ротової порожнини дітей - є проблемою як медичного, так і психологічного характеру (остання пов'язана із необхідністю застосовувати препарати приємні для дітей на вигляд та смак).

2. Проведено теоретичний аналіз існуючих на ринку пробіотичних препаратів, що застосовуються у лікуванні ЛОР-захворювань та, після аналізу можливих компонентів та технологій, обрано склад та технологію отримання орального пробіотичного засобу у формі льодяника, який буде перспективним для застосування у педіатрії.

3. Дослідження властивостей пробіотичних штамів *L. fermentum* 90-ТЦ та *L. plantarum* 8P-A3 показали перспективність їхнього застосування у оральному пробіотичному засобі. Також в якості діючих компонентів запропоновано використовувати метаболіти даних штамів, які володіють досить великим антимікробним потенціалом до умовно-патогенних мікроорганізмів, що викликають інфекційні ЛОР-захворювання, а для профілактики та лікування проблеми галітозу запропоновано використовувати ефірні олії традиційних антигалітозних рослинних засобів.

4. Підібрано компоненти для льодяникової маси: ксиліт - безпечний аналог цукру, сорбіт - для зниження температури плавлення та часу необоротної кристалізації льодяникової маси, гуміарабік - загущувач та поліпшувач розчинення ліофілізованої біомаси бактерій, аскорбат натрію - вітамін та протектор для бактерій, гліцерин - зволожувач, агент, що знижує в'язкість основи та має захисний та стабілізаційний вплив щодо пробіотичної культури, та ферментований рис - натуральний барвник. Всі обрані компоненти є натуральними та за відомостями виробників - безпечними для застосування, зокрема для дітей.

5. Нашими дослідженнями показано можливість сумісного використання основних та допоміжних компонентів разом із пробіотичними культурами, а для компонентів - гуміарабіку та аскорбату натрію - наявні пребіотичні властивості, що дозволяє стверджувати про гарну та швидку активацію бактерій при потраплянні у ротову порожнину.

6. На основі основних та діючих компонентів запропоновані наступні склади оромукозного препарату із пробіотиком у вигляді льодяників:

Склад 1, мас. %:

ксиліт - 80,

сорбіт - 4,

ліофілізованої біомаси *L. fermentum* 90-ТЦ та *L. plantarum* 8P-A3 у співвідношенні 1:1 - 1,2,

гуміарабік - 1,

аскорбат натрію - 1,

барвник - 0,5,

гліцерин - 0,4,

ефірної олії імбиру аптечного – 0,25,

ефірної олії кориці китайської – 0,25,

води очищеної - до 100;

Склад 2, мас. %:

ксиліт - 80,

сорбіт - 4,

гліцерин - 3,5,

розчин метаболітів - 1,5,

барвник - 0,5,

ефірної олії імбиру аптечного – 0,25,

ефірної олії кориці китайської – 0,25,

води очищеної - до 100.

7. Приготовлені за обраною технологією оральні пробіотичні препарати у вигляді льодяників двох складів - на основі живих лактобактерій

та на основі їх метаболітів - показали високі органолептичні показники та ефективність, виживаємість бактерій та антимікробні властивості, відповідно.

Таким чином, в ході проведення комплексу теоретичних, мікробіологічних та технологічних досліджень, було розроблено оромукозний препарат з пробіотиком у вигляді льодяників двох складів (на основі життєздатних пробіотичних культур та їх метаболітів), яку після проведення хіміко-фізичних досліджень та визначення безпечності може бути рекомендована як біологічно активну добавку для підтримки ротової мікрофлори, стимуляції власного імунітету та як лікувально-профілактичний засіб при інфекційних захворюваннях ротової порожнини та при проблемах галітозу для застосування як у дорослих, так і у дітей.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Hutkins, R., Merrifield, C. A., Merenstein, D., et al. Probiotics for human use. Nutrition Bulletin, Aug 10. 2018 DOI: <https://doi.org/10.1111/nbu.12334>.
2. Food and Agricultural Organization/WHO. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. In: Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Food and Agricultural Organization, Rome, Italy, 2002. Available at: https://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf.
3. Vrese, M., Schrezenmeir, J. Probiotics, prebiotics, and synbiotics. Adv Biochem Eng Biotechnol., 2008, 111, 1–66. Available at: https://link.springer.com/chapter/10.1007/10_2008_097.
4. Saxelin, M., Tynkkynen, S., Mattila-Sandholm, T., de Vos W.M. Probiotic and other functional microbes: from markets to mechanisms. Curr Opin Biotechnol. 2005, 16, 204–211. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2005.02.003>
5. Gao, L., Xu, T., Huang, G., et al. Oral microbiomes: more and more importance in oral cavity and whole body. Protein Cell, 2018, 9, 488-500. DOI: 10.1007/s13238-018-0548-1.
6. Expanded Human Oral Microbiome Database. Available at: <http://www.homd.org/>.
7. Ahrne, S, Nobaek, S, Jeppsson, B, Adlerberth, I, Wold, A.E., Molin, G. The normal Lactobacillus flora of healthy human rectal and oral mucosa. J Appl Microbiol, 1998, 85, 88–94. DOI: [10.1046/j.1365-2672.1998.00480.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1998.00480.x).
8. Maukonen, J, Mätto, J, Suihko, M.L., Saarela, M. Intra-individual diversity and similarity of salivary and faecal microbiota. J Med Microbio., 2008, 57, 1560–1568. DOI: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.47352-0>.
9. Rotimi, V.O., Duerden, B.I. The development of the bacterial flora in normal neonates. J Med Microbiol, 1981, 14, 51–62. DOI: <https://doi.org/10.1099/00222615-14-1-51>.

10. Crociani, F., Biavati, B., Alessandrini, A., Chiarini, C., Scardovi, V. *Bifidobacterium inopinatum* sp. nov. and *Bifidobacterium denticolens* sp. nov., two new species isolated from human dental caries. *Int J Syst Bacteriol*, 1996, 46, 564–571. DOI: <https://doi.org/10.1099/00207713-46-2-564>
11. Beighton, D., Gilbert, S.C., Clark, D., Mantzourani, M., Al-Haboubi, M., Ali, F. et al. Isolation and identification of bifidobacteriaceae from human saliva. *Appl Environ Microbiol*, 2008, 74, 6457–6460. DOI: 10.1128/AEM.00895-08
12. Expanded Human Oral Microbiome Database. Available at: <http://www.homd.org/>.
13. Крючко, Т. О., Ткаченко, О. Я. Клінічний досвід застосування *Streptococcus salivarius* K12 у профілактиці фаринготонзилітів і респіраторних інфекцій у дітей. *Здоров'я ребенка*, 2018, Т. 13, № 7, 629-634.
14. Naukioja, A. Probiotics and Oral Health. *Eur J Dent*, 2010, 4(3), 348–355.
15. Nikawa, H., Makihira, S., Fukushima, H., Nishimura, H., Ozaki, Y., Ishida, K., et al. *Lactobacillus reuteri* in bovine milk fermented decreases the oral carriage of mutans streptococci. *Int J Food Microbiol*, 2004, 95, 219–223.
16. Caglar, E., Sandalli, N., Twetman, S., Kavaloglu, S., Ergeneli, S., Selvi, S.. Effect of youghurt with *Bifidobacterium* DN-173010 on salivary mutans streptococci and lactobacilli in young adults. *Acta Odont Scand*, 2005, 63, 317–320.
17. Caglar, E., Cildir, S.K., Ergeneli, S., Sandalli, N., Twetman, S.. Salivary mutans streptococci and lactobacilli levels after ingestion of the probiotic bacterium *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 by straws or tablets. *Acta Odontol Scand*, 2006, 64, 314–318.
18. Kragen, H. The treatment of inflammatory affections of the oral mucosa with a lactic acid bacterial culture preparation. *Zahnartzl Welt*, 1984, 9, 306–308.
19. Krasse, P., Carlsson, B., Dahl, C., Paulsson, A., Nilsson, A., Sinkiewicz, G. Decreased gum bleeding and reduced gingivitis by the probiotic *Lactobacillus reuteri*. *Swed Dent J*, 2006, 30, 55–60. Available at: <https://europepmc.org/article/med/16878680/reload>

20. Della Riccia, D.N., Bizzini, F., Perilli, M.G., Polimeni, A., Trinchieri, V., Amicosante G, et al. Anti-inflammatory effects of *Lactobacillus brevis* (CD2) on periodontal disease. *Oral Dis.* 2007, 13, 376–385. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2006.01291.x>
21. Twetman, S., Derawi, B., Keller, M., Ekstrand, K., Yucel-Lindberg, T., Stecksén-Blicks, C. Short-term effect of chewing gums containing probiotic *Lactobacillus reuteri* on the levels of inflammatory mediators in gingival crevicular fluid. *Acta Odontol Scand.* 2009, 67, 19–24.
22. Shimauchi, H., Mayanagi, G., Nakaya, S., Minamibuchi, M., Ito, Y., Yamaki, K., et al. Improvement of periodontal condition by probiotics with *Lactobacillus salivarius* WB21: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Clin Periodontol*, 2008, 35, 897–905. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2008.01306.x>
23. Mayanagi, G., Kimura, M., Nakaya, S., Hirata, H., Sakamoto, M., Benno, Y., et al. Probiotic effects of orally administered *Lactobacillus salivarius* WB21-containing tablets on periodontopathic bacteria: a double-blinded, placebo-controlled, randomized clinical trial. *J Clin Periodontol*, 2009, 36, 506–513. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2009.01392.x>
24. Годована, О. І., Бежук, Ю. А. Перебіг тонзиллярної інфекції та захворювань пародонту в світлі окремих аспектів етіології та патогенезу (огляд літератури). *Вісник проблем біології і медицини*, 2019, Вип. 2, Т. 2 (151), 24-29. DOI: 10.29254/2077-4214-2019-2-2-151-24-29.
25. СТ-Н МОЗУ 42-3.15:2014 Лікарські засоби. Фармацевтична розробка лікарських засобів для педіатричного застосування. Джерело: <https://compendium.com.ua/uk/clinical-guidelines-uk/standartizatsiya-farmatsevtichnoyi-produktsiyi-tom-1/st-n-mozu-42-3-15-2014/>
26. Гордієнко, О. І., Грошовий, Т. А., Сучасний стан створення, виробництва та дослідження таблетованих лікарських препаратів. *Повідомлення 27. Основні аспекти виготовлення лікарських засобів у формі льодяників*, *Фармацевтичний часопис*, 2017, № 1, 74-80.

27. Державна Фармакопея України, Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид. Доповнення 2, Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008, 620 с.

28. Sondarva, K., Bhadra, S. Development of cefixime lozenge for the treatment of throat infection, *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2015, Vol. 4 (7), 64-56.

29. Modyala, D., Aparna, C., Srinivas, P. Formulation, evaluation and characterization of itraconazole lozenges, *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 2014, Vol. 9 (3), 86-94.

30. Allen L. V. Troches and Lozenges / L. V. Allen // *Secundum artem. Current & practical compounding information for the pharmacist*. - 2001. - Vol. 4 (2). - P. 23-25.

31. Pundir S. A Review on lozenges / S. Pundir, A. M. L. Varma // *J. der Pharma. Forschung*. - 2014. - Vol. 2 (1). - P. 1–10

32. Перспективність розробки оральних пробіотиків у вигляді льодяників / У. А. Старущенко, О. С. Калюжная // *Сучасні виклики і актуальні проблеми науки, освіти та виробництва: міжгалузеві диспути* : збірник наукових праць XII Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, 29 січня 2021. - ISSN: 2708-1257.

33. Vrushali P, Shahana S, Sanket J, Harsha Vardhan Reddy P., Rukmender, Sagarla A, Pothugunta S. Validating antibacterial efficacy of essential oils combinations against dental caries pathogens. *Research & Reviews: Journal of Dental Sciences*. 2019 Mar. Available from: <http://www.rroj.com/openaccess/validating-antibacterial-efficacy-of-essential-oilcombinations-against-dental-caries-pathogens.php?aid=87525>.

34. Леженко, Г.О., Пашкова, О.Є. (2016). Рациональний вибір етіотропної терапії при запальних захворюваннях лор-органів у дітей. *Современная педиатрия*, № 1 (73), 44-48.

35. Majekodunmi, S. O. A Review on Lozenges. American Journal of Medicine and Medical Sciences, 2015, 5(2), 99-104. DOI:10.5923/j.ajmms.20150502.07.

36. Pundir, S. A., Varma, A. M. L. Review on lozenges. J. der Pharma. Forschung., 2014, Vol. 2 (1)., 1–10.

38. Калюжная, О. С., Калюжный, О. Б. Використання фторопластових фільтруючих елементів у біотехнологічному виробництві антибіотичних речовин. Технічний сервіс агропромислового, лісового та транспортного комплексів, 2020, №22, 84-89. DOI: <https://doi.org/10.37700/ts.2020.22.84-89>.

ДОДАТКИ

Апробація результатів роботи на науково-практичних заходах





МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ДИПЛОМ ПЕРЕМОЖЦЯ

нагороджується

Уляна Старушенко

із науковою роботою:

**«Розробка складу та технології оромукозного
препарату з пробіотиком»**

(науковий керівник - Калюжная О. С., к. фарм. н.,
доц. кафедри біотехнології)

у I етапі Всеукраїнського конкурсу студентських
наукових робіт зі спеціальності
"Біотехнології та біоінженерія"

Ректор НФаУ,
д. фарм. н., проф.



Алла КОТВИЦЬКА

Проректор з НДР,
д. фарм. н., проф.

Інна ВЛАДИМИРОВА

11 лютого 2021 р.
м. Харків, Україна

СЕРТИФІКАТ

учасника конференції



Цей сертифікат засвідчує, що
Старущенко Ілона Андріївна

взяв(ла) участь у роботі

XII Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції
«Сучасні виклики і актуальні проблеми
науки, освіти та виробництва: міжгалузеві диспути»

Організаційний комітет

Україна, м. Київ
29 січня 2021 р.



Конференція проведена на базі
наукової платформи
Open Science Laboratory
www.openscilab.org



Міністерство
охорони здоров'я
України

Національний
фармацевтичний
університет



Цим засвідчується, що

Старущенко У. А.

Науковий керівник:
Калюжная О. С.

брав(ла) участь у роботі III Всеукраїнської
науково-практичної конференції
з міжнародною участю

**YOUTH
PHARMACY
SCIENCE**

СЕРТИФІКАТ

Ректор НФаУ,
д. фарм. н., проф.



Алла КОТВИЦЬКА

7-8 грудня 2022 р.
м. Харків
Україна

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Диплом

III ступеня

нагороджується

Старущенко Уляна Андріївна

здобувачка
Національного фармацевтичного університету,
автор роботи
«Розробка складу та технології
оромукозного препарату з пробіотиком»

переможець

II туру
Всеукраїнського конкурсу студентських
наукових робіт зі спеціальності
«Біотехнології та біоінженерія»

9 квітня 2021 р.

Голова галузевої конкурсної комісії,
ректор, професор

О.Ю. Шевченко



Київ 2021



Міністерство
охорони здоров'я
України

Національний
фармацевтичний
університет

ГРАМОТА

нагороджується

**Старуценко
Уляна**

у секційному засіданні студентського
наукового товариства кафедри
біотехнології

III Всеукраїнська науково-практична
конференція з міжнародною участю

YOUTH PHARMACY SCIENCE

Ректор Фах
д. фарм. н., проф.



Алла КОТВИЦЬКА

7-8 грудня 2022 р.,
м. Харків, Україна



УДК 615.32: 615.11

У. А. Старущенко¹, Л. О. Ярова¹, О. С. Калюжная¹, Н. В. Хохленкова¹, О. Б. Калюжный²¹ Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України² Харківський національний технічний університет сільського господарства імені Петра Василенка

Біотехнологічні дослідження для розробки леденчиків з пробіотиками

Метою роботи була розробка леденчиків з пробіотичними компонентами для лікування і профілактики ЛОР-захворювань та аналіз їх ефективності.

Матеріали та методи роботи. Об'єктами дослідження були леденчики на основі ксиліту та сорбіту двох складів – на основі живих пробіотичних культур та їх метаболітів. Методами контролю ефективності зразків обрано: визначення кількості життєздатних лактобактерій під час дослідження їх сумісного використання із компонентами препарату та кількості життєздатних бактерій у готових оральних пробіотиках методом Коха (метод прямого висівання на чашки) та метод дифузії в агар з визначенням зони затримки зростання тест-штамів мікроорганізмів.

Результати та їх обговорення. Проведені дослідження властивостей пробіотичних штамів *L. fermentum* 90-ТЦ та *L. plantarum* 8P-A3 довели перспективність їх застосування в оральному пробіотичному засобі. Також запропоновано використовувати як діючі компоненти метаболіти цих штамів, що мають досить великий антимікробний потенціал до умовно-патогенних мікроорганізмів, які викликають інфекційні ЛОР-захворювання. Приготовлені оральні пробіотичні препарати у вигляді леденчиків двох складів – на основі живих лактобактерій та на основі їх метаболітів – виявили високу ефективність, виживаність бактерій та, відповідно, антимікробні властивості.

Висновки. У ході проведення комплексу теоретичних, технологічних та біотехнологічних досліджень розроблено леденчики з пробіотиком двох складів (на основі життєздатних пробіотичних культур та їх метаболітів), що після подальших досліджень можуть бути рекомендовані як біологічно активна добавка для підтримки ротової мікрофлори, стимуляції власного імунітету та як лікувально-профілактичний засіб при інфекційних захворюваннях ротової порожнини дорослих і дітей.

Ключові слова: пробіотик; леденчики; ЛОР-захворювання

U. Starushenko¹, L. Yarova¹, O. Kaliuzhnaia¹, N. Khokhlenkova¹, O. Kaliuzhnyi²

¹ National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine

² Kharkiv Petro Vasilenko National Technical University of Agriculture

The biotechnological studies when developing lozenges with probiotics

Aim. To develop lozenges with probiotic components for the treatment and prevention of ENT diseases and analyze their effectiveness.

Materials and methods. The study objects were lozenges based on xylitol and sorbitol of two compositions – based on live probiotic cultures and their metabolites. The following methods of control of the sample efficiency were chosen: determination of the number of viable lactobacilli in the study of their combined use with the drug components and the number of viable bacteria in finished oral probiotics by the Koch method (direct seeding on cups), as well as the method of diffusion into agar with the growth inhibition zone determination.

Results and discussion. The studies of the properties of probiotic strains of *L. fermentum* 90-TC and *L. plantarum* 8P-A3 have shown the prospects for their use in oral probiotics. It has been also proposed to use metabolites of these strains as active components, which have a rather high antimicrobial potential to opportunistic pathogens that cause infectious ENT diseases. The oral probiotics in the form of lozenges of two compositions – based on live lactobacilli and their metabolites – have shown high efficiency, bacterial survival and antimicrobial properties, respectively.

Conclusions. During the complex of the theoretical, technological and biotechnological studies, lozenges with a probiotic of two compositions (based on viable probiotic cultures and their metabolites) have been developed. After further research they can be recommended as a biologically active additive to support the oral microflora, stimulate the own immunity and as a therapeutic and prophylactic agent in infectious diseases of the oral cavity for use in both adults and children.

Key words: probiotic; lozenges; ENT diseases

U. A. Starushenko¹, L. A. Yarova¹, O. S. Kaliuzhnaia¹, N. V. Khokhlenkova¹, A. B. Kaliuzhnyi²

¹ Национальный фармацевтический университет Министерства здравоохранения Украины

² Харьковский национальный технический университет сельского хозяйства имени Петра Василенко

Биотехнологические исследования при разработке леденцов с пробиотиками

Целью работы была разработка леденцов с пробиотическими компонентами для лечения ЛОР-заболеваний и анализ их эффективности.

Материалы и методы работы. Объектами исследования были леденцы на основе ксилита и сорбита двух составов – на основе живых пробиотических культур и их метаболитов. Методами контроля эффективности образцов избраны: определение количества жизнеспособных лактобактерий при исследовании их совместного использования с компонентами препарата и количества жизнеспособных бактерий в готовых оральных пробиотиках методом Коха (метод прямого посева на чашки) и метод диффузии в агар с определением зоны задержки роста тест-штаммов микроорганизмов.

Національний фармацевтичний університет

Факультет фармацевтичних технологій та менеджменту

Кафедра біотехнології

Ступінь вищої освіти другий магістерський

Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія

Освітня програма Промислова біотехнологія

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувачка кафедри

біотехнології

Наталя ХОХЛЕНКОВА

«06» лютого 2023 року

**ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА ВИЩОЇ ОСВІТИ**

Улянні СТАРУЩЕНКО

1. Тема кваліфікаційної роботи: «Удосконалення складу льодяників з пробіотичною активністю»,
керівник кваліфікаційної роботи: Ольга КАЛЮЖНАЯ, к.фарм.н., доцент
(Ім'я, ПРІЗВИЩЕ, науковий ступінь, вчене звання)
затверджений наказом НФаУ від «6» березня 2023 року № 58
2. Строк подання здобувачем вищої освіти кваліфікаційної роботи: 14.06.2023 р.
3. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи: об'єкт дослідження – пробіотичні культури лактобактерій, протигалітозні компоненти – ефірні олії рослинного походження, структуроутворювачі льодяникової маси – ксиліт та сорбіт, технологічні компоненти – гуміарабік та гліцерин; мета – удосконалення складу льодяників з пробіотиком, які були нами раніше розроблені, за рахунок уведення компонентів для лікування галітозу та розробка їхньої технології виготовлення.
4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): вступ; огляд літератури; об'єкти і методи досліджень; експериментальна частина; висновки
6. Дата видачі завдання: «06» лютого 2023 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Термін виконання етапів кваліфікаційної роботи	Примітка
1	Формування напряму наукового дослідження, постановка проблеми	Лютий 2023	виконано
2	Аналітичний огляд літератури	Березень 2023	виконано
3	Вибір об'єктів та методів дослідження	Березень 2023	виконано
4	Проведення досліджень	Квітень-травень 2023	виконано
6	Обробка результатів та оформлення кваліфікаційної роботи	Травень-червень 2023	виконано
8	Здача роботи до Екзаменаційної комісії	14 червня 2023	виконано

Здобувач вищої освіти

_____ Уляна СТАРУЩЕНКО
(підпис) (Ім'я, ПРІЗВИЩЕ)

Керівник кваліфікаційної роботи

_____ Ольга КАЛЮЖНАЯ
(підпис) (Ім'я, ПРІЗВИЩЕ)

ВИТЯГ З НАКАЗУ № 58
по Національному фармацевтичному університету
від 06 березня 2023 року

Про затвердження тем кваліфікаційних робіт

Затвердити теми кваліфікаційних робіт, керівників-консультантів та рецензентів здобувачам вищої освіти 2 курсу, спеціальність – 162 Біотехнології та біоінженерія, освітня програма – Промислова біотехнологія, ступінь вищої освіти – магістр, термін навчання – 1 р. 10 міс., заочна форма здобуття освіти.

Прізвище, ім'я по батькові здобувача вищої освіти	Тема кваліфікаційної роботи (українською мовою)	Тема кваліфікаційної роботи (англійською мовою)	Керівник кваліфікаційної роботи	Рецензент кваліфікаційної роботи
Старущенко Ульяна Андріївна	Удосконалення складу ледьяників з пробіотичною активністю	Improving the composition of lozenges with probiotic activity	Доцент закладу вищої освіти кафедри біотехнології, к.фарм.н, доцент Калюжная О.С.	Завідувачка кафедри заводської технології ліків, д.фарм.н, професор Рубан О.А.

В.о. ректора

Алла КОТВИЦЬКА

Вірно:

Декан факультету фармацевтичних технологій та менеджменту



Наталія ЖИВОРА

Ф А2.8-47-110

ВИСНОВОК**Комісії з академічної доброчесності про проведену експертизу
щодо академічного плагіату у кваліфікаційній роботі
здобувача вищої освіти**

№ 115079 від «7» червня 2023 р.

Проаналізувавши випускну кваліфікаційну роботу за магістерським рівнем здобувача вищої освіти денної форми навчання Старущенко Ульяни Андріївни, 2 курсу, _____ групи, спеціальності 162 Біотехнології та біоінженерія, на тему: «Удосконалення складу ледьяників з пробіотичною активністю / Improving the composition of lozenges with probiotic activity», Комісія з академічної доброчесності дійшла висновку, що робота, представлена до Екзаменаційної комісії для захисту, виконана самостійно і не містить елементів академічного плагіату (компіляції).

**Голова комісії,
професор**

**Інна ВЛАДИМИРОВА****1%****17%**

ВІДГУК

наукового керівника на кваліфікаційну роботу магістерського ступеня вищої освіти спеціальності 162 Біотехнології та біоінженерія

Уляни СТАРУЩЕНКО

на тему: **«Удосконалення складу льодяників з пробіотичною активністю».**

Актуальність теми. Запальні захворювання лор-органів у дітей є актуальною проблемою не тільки отоларингологів і педіатрів. Це пов'язано з їх високою поширеністю, а також здатністю провокувати і підтримувати захворювання інших органів і систем організму. Вважається, що ключовими властивостями ідеального орального пробіотика повинні бути відсутність патогенних властивостей і наявність потужної інгібуючої активності щодо *S. ruogenes* та патогенів, які викликають захворювання порожнини рота і ЛОР-органів. З урахуванням потреб педіатричної практики розширення спектра препаратів для лікування ЛОР-захворювань можливе за рахунок розробки оральних пробіотиків у вигляді льодяників.

Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість. В ході проведення комплексу теоретичних, технологічних та біотехнологічних досліджень, розроблено льодяники з пробіотиком двох складів (на основі життєздатних пробіотичних культур та їх метаболітів), які після подальших досліджень можуть бути рекомендовані як біологічно-активна добавка для підтримки ротової мікрофлори, стимуляції власного імунітету та як лікувально-профілактичний засіб при інфекційних захворюваннях ротової порожнини для застосування як у дорослих, так і у дітей.

Оцінка роботи. Проведені дослідження властивостей пробіотичних штамів показали перспективність їхнього застосування у оральному пробіотичному засобі. Також в якості діючих компонентів запропоновано використовувати метаболіти даних штамів, які володіють досить великим антимікробним потенціалом до умовно-патогенних мікроорганізмів, що викликають інфекційні ЛОР-захворювання та антигалітозні компоненти. Приготовлені оральні пробіотичні препарати у вигляді льодяників двох складів показали високу ефективність, виживаємість бактерій та антимікробні властивості, відповідно.

Загальний висновок та рекомендації про допуск до захисту. Дана кваліфікаційна робота містить всі необхідні розділи, виконана якісно, відповідно до вимог до кваліфікаційних робіт магістра та може бути представлена до захисту на засіданні Екзаменаційної комісії, а її автор заслуговує присвоєння кваліфікації «магістр з біотехнологій та біоінженерії».

Науковий керівник

_____ (підпис)

Ольга КАЛЮЖНАЯ

(Ім'я, ПРІЗВИЩЕ)

« 12 » червня 2023 р .

Ф А 2.2.1-32-356

РЕЦЕНЗІЯ

на кваліфікаційну роботу Уляни СТАРУЩЕНКО
(Ім'я, ПРІЗВИЩЕ)

на тему: «**Удосконалення складу льодяників з пробіотичною активністю**».
Актуальність теми. Серед пероральних засобів, зокрема для лікування та профілактики ЛОР-захворювань, звертає на себе увагу така форма як льодяники, яка має певні переваги, особливо для застосування у педіатрії та при профілактиці та лікуванні проблем галітозу. Розширення спектра препаратів для лікування ЛОР-захворювань для педіатричного застосування та галітозу можливе за рахунок розробки оральних пробіотиків у вигляді льодяників на основі пробіотичних культур, протигалітозних компонентів, ксиліту та сорбіту.

Теоретичний рівень роботи. У роботі розглянуто теоретичні питання використання пробіотичних культур для лікування інфекційно-запальних захворювань, зокрема для захворювань ротової порожнини. Показано, що їх лікування у дітей - є проблемою як медичного, так і психологічного характеру. Обґрунтовано доцільність введення до складу льодяників ксиліту та сорбіту, гуміарабіку, аскорбату натрія. Проведений аналіз результатів експериментальних досліджень, зроблені ґрунтовні висновки.

Пропозиції автора з теми дослідження. В ході проведення комплексу досліджень, було розроблено оромукозний препарат з пробіотиком у вигляді льодяників двох складів (на основі життєздатних пробіотичних культур та їх метаболітів), яку після проведення хіміко-фізичних досліджень та визначення безпечності може бути рекомендована як біологічно активну добавку для підтримки ротової мікрофлори, стимуляції власного імунітету та як лікувально-профілактичний засіб при інфекційних захворюваннях ротової порожнини для застосування як у дорослих, так і у дітей.

Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість. Результати теоретичних та експериментальних досліджень, наведені в роботі, можуть бути застосовані на вітчизняних підприємствах.

Недоліки роботи. В роботі є деякі невдалі вирази, деякі розділи можна було викласти менш докладно.

Загальний висновок і оцінка роботи. Робота містить всі необхідні розділи, розрахунки та дослідження, виконана якісно, відповідно до вимог до кваліфікаційних робіт ступіня вищої освіти «магістр» та може бути представлена до захисту на засіданні Екзаменаційної комісії НФаУ.

Рецензент _____ професор Олена РУБАН _____
(підпис) (вчене звання, Ім'я, ПРІЗВИЩЕ)

«13» червня 2023 р.

ВИТЯГ З ПРОТОКОЛУ № 12

«14» червня 2023 року

м. Харків

Засідання кафедри біотехнології

Голова: завідувачка кафедри, доктор фармацевтичних наук, професор
Наталя ХОХЛЕНКОВА.

Секретар: асистент закладу вищої освіти Аліна СОЛОВЙОВА.

ПРИСУТНІ: завідувачка кафедри Наталя ХОХЛЕНКОВА, професор
закладу вищої освіти Леонід СТРЕЛЬНИКОВ, професор закладу вищої
освіти Оксана СТРИЛЕЦЬ, доцент закладу вищої освіти Ольга КАЛЮЖНАЯ,
доцент закладу вищої освіти Юлія АЗАРЕНКО, доцент закладу вищої освіти
Наталя ДВІНСЬКИХ, асистент закладу вищої освіти Аліна СОЛОВЙОВА.

ПОРЯДОК ДЕННИЙ:

Про представлення до захисту до Екзаменаційної комісії випускних
кваліфікаційних робіт.

I. СЛУХАЛИ:

Здобувача вищої освіти спеціальності 162 «Біотехнології і біоінженерія»
ОП «Промислова біотехнологія» заочної форми навчання 2 курсу 1 групи
Уляну СТАРУЩЕНКО з доповіддю на тему «Удосконалення складу
льодяників з пробіотичною активністю» (керівник доцент закладу вищої
освіти Ольга КАЛЮЖНАЯ).

УХВАЛИЛИ:

Рекомендувати до захисту кваліфікаційну роботу.

Голова

Завідувачка кафедри,
доктор фармацевтичних наук,
професор

Наталя ХОХЛЕНКОВА

(підпис)**Секретар**

асистент закладу вищої освіти

Аліна СОЛОВЙОВА

(підпис)

Ф А2.2.1-32-042

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**ПОДАННЯ
ГОЛОВІ ЕКЗАМЕНАЦІЙНОЇ КОМІСІЇ
ЩОДО ЗАХИСТУ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ**Направляється здобувач вищої освіти Уляна СТАРУЩЕНКО
(Ім'я, ПРІЗВИЩЕ)

до захисту кваліфікаційної роботи

за галуззю знань 16 Хімічна та біоінженеріяспеціальністю 162 Біотехнології та біоінженеріяосвітньою програмою Промислова біотехнологіяна тему: «Удосконалення складу льодяників з пробіотичною активністю»

Кваліфікаційна робота і рецензія додаються.

Декан факультету _____ Наталія ЖИВОРА

Висновок керівника кваліфікаційної роботи

Здобувач вищої освіти Уляна СТАРУЩЕНКО рекомендується до захисту в Екзаменаційній комісії з кваліфікаційною роботою на тему: «Удосконалення складу льодяників з пробіотичною активністю».

Керівник кваліфікаційної роботи _____ Ольга КАЛЮЖНАЯ

«14» червня 2023 р.

Висновок кафедри про кваліфікаційну роботу

Кваліфікаційну роботу розглянуто. Здобувач вищої освіти Уляна СТАРУЩЕНКО допускається до захисту даної кваліфікаційної роботи в Екзаменаційній комісії.

Завідувачка кафедри біотехнології _____ Наталя ХОХЛЕНКОВА

«14» червня 2023 р.

Кваліфікаційну роботу захищено
у Екзаменаційній комісії

«16» червня 2023 р.

З оцінкою _____

Голова Екзаменаційної комісії,

кандидат сільськогосподарських наук

_____ / Олена ЩЕРБАК /