

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

Факультет медико-фармацевтичних технологій

Кафедра біотехнології

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

**на тему: «ОРГАНІЗАЦІЯ ВИРОБНИЦТВА ЗАКВАСКИ
БАКТЕРІАЛЬНОЇ ДЛЯ ТВЕРДИХ СИРІВ»**

Виконав : здобувачка вищої освіти групи БТ621(3,10д)-01
спеціальності 162 Біотехнології та біоінженерія
освітньої програми Біотехнологія

Юлія КАТАСОНОВА

Керівник: Асистент кафедри біотехнології, доктор філософії
Аліна СОЛОВЙОВА

Рецензент: Доцент закладу вищої освіти кафедри біотехнології,
біофізики та аналітичної хімії Національного технічного
університету «Харківський політехнічний інститут», к.т.н., доц.
Наталія МАСАЛІТІНА

Харків – 2025 рік

АНОТАЦІЯ

У роботі розроблено та обґрунтовано технологічний процес виробництва бактеріальних заквасок для твердих сирів із штамів *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Streptococcus thermophilus* та *Lactobacillus helveticus*, адаптований до умов вітчизняних молочних підприємств. Процес включає культивування (I–IV генерації), концентрацію та ліофілізацію. Обґрунтоване обладнання для реалізації вирощування культур, складено схеми виробництва та визначено контрольні точки. Проаналізовано екологічні аспекти та запропоновано рішення для їх оптимізації. Додаткові рішення знижують витрати і підвищують прибуток. Розробка, виконана за підтримки ENGENIUM GROUP, сприяє зменшенню імпортої залежності та підвищенню якості харчових продуктів до стандартів ЄС.

Ключові слова: закваски бактеріальні, молочнокислі бактерії, ферментери.

ANNOTATION

The work developed and substantiated the technological process for the production of bacterial starter cultures for hard cheeses from strains *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus helveticus*, adapted to the conditions of domestic dairy enterprises. The process includes cultivation (I–IV generation), concentration and lyophilization. The equipment for the implementation of culture cultivation was substantiated, production schemes were drawn up and control points were determined. Environmental aspects were analyzed and solutions for their optimization were proposed. Additional solutions reduce costs and increase profits. The development, carried out with the support of ENGENIUM GROUP, contributes to reducing import dependence and improving the quality of food products to EU standards.

Keywords: bacterial starter cultures, lactic acid bacteria, fermenters.

ЗМІСТ

Вступ.....	3
1 Аналітичний огляд.....	6
1.1 Стан українського та світового ринку виробництва заквасок	6
1.2 Характеристика мікроорганізмів, що використовуються у складі заквасок для сирів	10
1.3 Характеристика типових технологій виробництва заквасок	11
1.4 Проблеми, з якими стикаються виробники бактеріальних заквасок для твердих сирів	13
2 Характеристика готового продукту, сировини, матеріалів, напівпродуктів.....	19
2.1 Характеристика готового продукту.....	19
2.2 Характеристика сировини.....	22
2.3 Характеристика біологічних об'єктів.....	25
2.4 Біосинтез цільового продукту.....	29
3 Технологічна частина.....	33
3.1 Розрахунок витрат компонентів.....	33
3.2 Обґрунтування та вибір обладнання	41
3.3 Опис технологічного процесу.....	43
3.4 Схеми виробництва.....	51
3.5 Контроль виробництва.....	55
3.6 Екологічні аспекти виробництва.....	61
Висновок.....	65
Список використаної літератури.....	66
Додатки.....	70

					162.01.07.00 000 ПЗ			
Змн..	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розробив	Катасонова				Організація виробництва закваски бактеріальної для твердих сирів Пояснювальна записка	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевірив	Соловійова						2	68
.						НФаУ Кафедра біотехнології		
Н. контр.								
Затвердив	Хохленкова							

ВСТУП

Актуальність теми. У сучасному світі зростає попит на високоякісні молочні продукти, зокрема тверді сири, що обумовлено зміною харчових уподобань споживачів та їхньою орієнтацією на натуральні й здорові продукти. Виробництво твердих сирів у значній мірі залежить від якості бактеріальних заквасок, які забезпечують ферментацію, текстуру та смакові характеристики кінцевого продукту. Однак традиційні методи виробництва заквасок часто стикаються з проблемами, такими як низька стабільність мікроорганізмів, високі енергетичні витрати та обмежена репродуктивність культур, що негативно впливає на економічну ефективність і конкурентоспроможність вітчизняних виробників. З огляду на це, розробка інноваційних технологій організації виробництва бактеріальних заквасок для твердих сирів стає актуальним завданням, яке сприяє підвищенню якості продукції та її відповідності міжнародним стандартам.

Бактеріальні закваски, що включають штами лактококів (*Lactococcus lactis*), термофільних стрептококів (*Streptococcus thermophilus*) та інших лактобацил, є ключовим елементом у технології твердих сирів, таких як пармезан, чеддер чи гауда. Вони забезпечують кислотоутворення, ароматизацію та дозрівання сиру, а також сприяють його довготривалому зберіганню. За даними Української асоціації молочної промисловості (УАМП), у 2024 році обсяги виробництва твердих сирів в Україні зросли на 8%, досягнувши 120 тис. тон, що свідчить про потенціал ринку. Водночас імпорт заквасок становить понад 70% від потреби, що вказує на необхідність локалізації виробництва для зниження залежності від закордонних постачальників і підвищення економічної стійкості вітчизняних підприємств. Актуальність теми посилюється екологічними та економічними перевагами впровадження локальних біотехнологій, які відповідають принципам сталого

розвитку.

Застосування інноваційних підходів до організації виробництва бактеріальних заквасок дозволить вітчизняним підприємствам, наприклад ПАТ «Молочний альянс», ТОВ «Данон Україна», ТОВ «Клуб сиру» та інші, підвищити якість сировини, знизити витрати на імпорт і адаптуватися до жорстких санітарних норм ЄС, що є особливо важливим у контексті інтеграції України в європейський ринок. Ця розробка, виконана в Компанії ENGENIUM GROUP, яка спеціалізується на інжинірингу та проєктуванні для біотехнологічної та харчової промисловості, спрямована на створення технології, адаптованої до умов українських виробництв.

Мета роботи. Розробити та обґрунтувати технологічний процес організації виробництва бактеріальних заквасок для твердих сирів, адаптований до умов функціонування вітчизняних молочних підприємств, із забезпеченням високої якості продукту та економічної ефективності.

Для досягнення поставленої мети необхідно вирішити наступні **завдання:**

1. Проаналізувати сучасні наукові та нормативні джерела щодо біотехнологічних особливостей бактеріальних заквасок, їхнього складу, умов культивування та вимог до якості для виробництва твердих сирів.

2. Описати біооб'єкти дослідження (штами лактококів, стрептококів та лактобацил) із акцентом на їхні фізіолого-біохімічні властивості та придатність для промислового виробництва.

3. Обґрунтувати вибір технологічного підходу, включаючи етапи культивування, ферментації, концентрації, стабілізації та пакування заквасок.

4. Підібрати та розрахувати необхідне технологічне обладнання відповідно до умов виробництва, особливостей сировини та технологічного процесу.

5. Скласти біологічну, технологічну та апаратурну схеми виробництва, що відображають послідовність і умови реалізації біотехнологічного процесу.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		4

6. Визначити точки контролю якості на кожному етапі, розробити заходи моніторингу та регулювання параметрів.

7. Проаналізувати екологічні аспекти виробництва та запропонувати рішення щодо зменшення впливу на довкілля.

8. Розробити додаткові технологічні рішення реалізації технології виробництва бактеріальної закваски, що сприятимуть зниженню витрат від організації виробництва та збільшенню прибутку.

Об'єкт роботи. Бактеріальні закваски (штами *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus*) як біооб'єкти для виробництва заквасок для твердих сирів.

Предметом роботи є біотехнологічний процес культивування, ферментації, концентрації та стабілізації бактеріальних заквасок, а також технологічні схеми та обладнання, що використовуються на підприємстві.

Методи. У процесі дослідження застосовувалися аналітичні методи (аналіз наукових джерел, нормативних документів), розрахункові методи для підбору обладнання, а також принципи системного підходу до проектування біотехнологічних процесів, характерні для діяльності Компанії ENGENIUM GROUP.

Практичне значення отриманих результатів. Розроблена технологія організації виробництва бактеріальної закваски для твердого сиру за сприяння компанії ENGENIUM GROUP може бути впроваджена на вітчизняних молочних підприємствах, що дозволить знизити залежність від імпорту заквасок (70% ринку), оптимізувати витрати на виробництво твердих сирів і підвищити їхню якість відповідно до стандартів ЄС. Представлені розрахунки обладнання, контрольні точки процесу та технологічні схеми є практичним інструментом для реалізації проекту в умовах українських виробництв.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		5

1 АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД

1.1 Стан українського та світового ринку виробництва заквасок

Виробництво твердих сирів є важливою складовою молочної промисловості, а якість кінцевого продукту значною мірою залежить від бактеріальних заквасок, які забезпечують ферментацію, текстуру, смакові характеристики та стабільність під час дозрівання. Закваски, що складаються з молочнокислих бактерій, відіграють ключову роль у формуванні органолептичних властивостей сирів, таких як чеддер, пармезан чи гауда, а також у забезпеченні їхньої безпечності та тривалого зберігання [1, 9, 11]. У контексті зростання попиту на молочні продукти в Україні та світі, а також необхідності локалізації виробництва для зменшення залежності від імпорту, аналіз ринку заквасок, мікроорганізмів і технологій їхнього виробництва є актуальним завданням.

Світовий ринок бактеріальних заквасок

Світовий ринок бактеріальних заквасок для молочної промисловості демонструє стабільне зростання, що зумовлене збільшенням попиту на молочні продукти, зокрема сири, які у 2024 році склали близько 26 млн тон у глобальному виробництві (FAO, 2024). За даними аналітичної компанії MarketsandMarkets (2025), ринок заквасок оцінюється в 1,2 млрд доларів США у 2025 році з прогнозованим щорічним зростанням (CAGR) на рівні 5,8% до 2030 року. Основними драйверами зростання є попит на натуральні продукти, зростання популярності твердих сирів у Європі (Італія, Франція, Нідерланди) та Північній Америці, а також розвиток біотехнологій. Попит на закваски зростає також завдяки розширенню ринків кисломолочних продуктів, таких як йогурт і кефір, які використовують схожі культури [22].

Європа є лідером ринку, займаючи близько 40% світового обсягу

завдяки розвиненій сироробній традиції (Італія, Франція, Нідерланди) та високому споживанню твердих сирів (10–12 кг на душу населення на рік). Країни ЄС також є основними виробниками заквасок, де розташовані штаб-квартири ключових гравців, таких як Chr. Hansen (Данія) і DSM (Нідерланди).

Північна Америка становить 25–30% ринку, з акцентом на масове виробництво чеддера та інших індустриальних сирів у США. Зростання тут підтримується інноваціями в біотехнологіях і попитом на низькокалорійні продукти.

Азія демонструє найвищий темп зростання (6–7%), зумовлений урбанізацією, підвищенням купівельної спроможності в Китаї та Індії та зростанням виробництва йогуртів і сирів (наприклад, моцарелли для піци).

Латинська Америка та Африка мають меншу частку (5–10%), але їхній потенціал зростає завдяки локалізації молочної промисловості та експорту заквасок із Європи.

Лідерами ринку є компанії, такі як Chr. Hansen (Данія), Danisco (DuPont, США), Sacco System (Італія) та DSM (Нідерланди), які контролюють понад 60% ринку завдяки широкому асортименту заквасок і технологій ліофілізації.

Ринок зосереджений навколо кількох великих компаній, які контролюють 60–70% виробництва:

Chr. Hansen (Данія) спеціалізується на DVS-культурах (Direct Vat Set) і пропонує широкий асортимент для сирів, включаючи термофільні штами для пармезану.

Danisco (DuPont, США) фокусується на заквасках для чеддера та гауди, використовуючи технології ліофілізації.

DSM (Нідерланди) розробляє закваски з підвищеною стійкістю до фагів, що є інновацією для індустриального виробництва.

Sacco System (Італія) та Lallemand (Канада) займають нішу в регіональних ринках і спеціалізованих культурах для традиційних сирів. Менші компанії пропонують нішеві продукти, але їхня частка залишається

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		7

незначною (5–10%). Конкуренція посилюється через злиття та поглинання, наприклад, злиття IFF і DuPont у 2021 році, що розширило портфель продуктів [21, 22].

Основні типи продуктів та технології, що використовуються у світі

Форми заквасок: Основними є заморожені (DVS – Direct Vat Set) і ліофілізовані (DVS Lyophilized) культури, які складають 80% ринку. Заморожені закваски популярні для швидкого введення (до 10^6 КУО/мл у молоці), тоді як ліофілізовані забезпечують термін зберігання до 24 місяців при 4°C [27].

Технології виробництва: Глибинне культивування в ферментерах із контролем температури (30–45°C) і pH (5,5–6,5) є стандартом. Інновації включають спрей-сушіння (зниження енергоспоживання на 30%) і мікрокапсулювання для підвищення стійкості штамів [19].

Склад: Закваски переважно складаються з молочнокислих бактерій (*Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus*), із додаванням допоміжних культур (наприклад, *Propionibacterium freudenreichii* для ементалю) [14].

Характеристика факторів зростання та обмеження

До факторів, які сприяють зростанню ринку заквасок відносяться: популярність на натуральні продукти (з вмістом пробіотиків), інновації в біотехнології, зокрема генній інженерії (використання CRISPR-Cas9 для фагостійкості) і автоматизація виробництва. Наприклад, запуск Delvo Fresh YS-042 (DSM, 2021) розширив ринок йогуртів із стабільною текстурою.

Серед факторів, які викликають обмеження ринку, можна виділити: високі капітальні витрати на обладнання (ферментери – 100–500 тис. дол. США за одиницю), залежність від сировини (лактоза, пептон) і регуляторні обмеження на ГМО в ЄС і США. Недостатня обізнаність виробників про властивості штамів призводить до втрат до 10% партій [22, 28].

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		8

Основні світові тенденції та інновації на ринку заквасок

Серед основних тенденцій на ринку заквасок слід виділити прагнення споживачів використовувати пробіотичні продукти, розвиток енергоефективних технологій, попит на кастомізовані закваски.

Споживачі дедалі більше обирають закваски з пробіотичними штамами (наприклад, *Lactobacillus casei*), що стимулює розробку багатофункціональних культур. Виробники інвестують у енергоефективні технології (біогаз, рециркуляція води), знижуючи викиди CO₂ на 20–40%.: Зростає попит на кастомізовані закваски для локальних сирів, що підтримує дрібні підприємства в Азії та Африці [23, 28].

Характеристика українського ринку заквасок

В Україні ринок заквасок для молочної промисловості є менш розвиненим, але має значний потенціал. За даними Української асоціації молочної промисловості (УАМП, 2024), обсяги виробництва твердих сирів у 2024 році склали 120 тис. тон, що на 8% більше порівняно з 2023 роком. Проте близько 70% заквасок, що використовуються українськими підприємствами, імпортуються, переважно з країн ЄС (Данія, Італія, Польща). Основними споживачами є великі молочні підприємства, такі як ПАТ «Молочний альянс» (виробництво сирів у Вінницькій області), ТОВ «Клуб сиру» (Львівська область), ТОВ «Данон Україна» (Київська область), а також середні та малі підприємства. Імпортозалежність створює проблеми, пов'язані з високими витратами (середня ціна закваски – 50–70 дол. США/кг), логістичними складнощами та коливаннями валютних курсів. Локальне виробництво заквасок в Україні обмежене через недостатню кількість спеціалізованих біотехнологічних компаній, хоча підприємства, такі як ТОВ «Ензим» (Львів), вже мають досвід у виробництві ферментів і заквасок для інших галузей. Потенціал локалізації виробництва заквасок для твердих сирів є високим, особливо в умовах інтеграції України до європейського ринку та вимог до відповідності стандартам ЄС (Regulation (EC) No 852/2004, HACCP) [8, 9, 12].

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		9

1.2. Характеристика мікроорганізмів, що використовуються у складі заквасок для сирів

Закваски для твердих сирів складаються з молочнокислих бактерій (LAB – lactic acid bacteria), які поділяються на мезофільні та термофільні культури залежно від оптимальних температур росту. Основні функції цих мікроорганізмів включають кислотоутворення, ароматизацію, протеоліз і захист від патогенів шляхом конкуренції та утворення бактеріоцинів [13].

Мезофільні культури (оптимальна температура 25–35°C)

Lactococcus lactis subsp. cremoris. Основний штам для швидкого зниження рН (до 5,2–5,4) під час згортання молока. Використовується у виробництві чеддера, гауди, едаму. Забезпечує стабільну ферментацію та м'який смак [4, 13].

Lactococcus lactis subsp. lactis. Сприяє ароматизації завдяки метаболізму цитрату, що призводить до утворення діацетилу (маслянистий аромат). Часто додається в закваски для гауди [4, 7].

Leuconostoc mesenteroides Використовується для газоутворення (CO₂), що створює невеликі «очі» в сирі, як у едамі. Однак у твердих сирах із тривалим дозріванням (наприклад, пармезан) його застосовують рідко через ризик нерівномірної текстури [7, 11].

Термофільні культури (оптимальна температура 37–45°C)

Streptococcus thermophilus. Використовується для сирів із термічною обробкою (наприклад, пармезан, грюйер). Прискорює ферментацію при підвищених температурах і підвищує стійкість до фагів [13].

Lactobacillus helveticus. Забезпечує інтенсивний протеоліз, що сприяє розвитку глибокого смаку під час дозрівання (6–24 місяців). Важливий для пармезану та чеддера [7, 13].

Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus. Часто додається до

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		10

термофільних заквасок для посилення кислотоутворення та ароматизації [7, 13].

Допоміжні культури

Propionibacterium freudenreichii. Використовується для сирів із «очима» (наприклад, емменталь), але для твердих сирів без газоутворення, таких як чеддер, не застосовується.

Brevibacterium linens. Додається для поверхневого дозрівання (наприклад, у лимбурзькому сирі), але для твердих сирів із тривалим дозріванням не є типовим [11].

Типові комерційні закваски, такі як Danisco Choozit MA 11 (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* 60%, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 30%, *Lactococcus lactis* biovar *diacetylactis* 10%) або Chr. Hansen FD-DVS LH-BV (*Streptococcus thermophilus* 50%, *Lactobacillus helveticus* 40%, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 10%), демонструють баланс між мезофільними та термофільними штамами, що забезпечує гнучкість у застосуванні.

1.3. Характеристика типових технологій виробництва заквасок

Виробництво бактеріальних заквасок для сирів є складним біотехнологічним процесом, який включає кілька етапів: вибір і підготовка штамів, культивування, концентрація, стабілізація та пакування. Основні технології можна поділити на два підходи: глибинне культивування (для рідких і заморожених заквасок) та поверхнєве культивування (рідше, для специфічних штамів).

Етап 1 - Вибір і підготовка штамів. Штами молочнокислих бактерій відбираються з урахуванням їхньої кислотоутворювальної активності, стійкості до фагів і здатності до ароматизації. Наприклад, *Lactococcus lactis* тестують на швидкість зниження рН (до 5,2 за 6 годин), а *Lactobacillus*

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
						11
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

helveticus – на протеолітичну активність (виробництво пептидів >10% за 30 днів дозрівання). Штами розмножують із материнських культур, збережених у ліофілізованому вигляді при -80°C у гліцеринових середовищах [8, 9, 18].

Етап 2 - Підготовка поживного середовища. Середовище для культивування зазвичай містить джерела вуглецю (лактоза 20–30 г/л), азоту (казеїн або пептон 10–15 г/л), мінеральні солі (KH₂PO₄, MgSO₄) та вітаміни (біотин, ніацин). Для термофільних штамів додають буферні системи (NaHCO₃) для підтримання pH 6,0–6,5. Середовище стерилізують при 121°C протягом 15 хв (автоклавування) [8, 9, 1].

Етап 3 - Культивування. Глибинне культивування проводиться у ферментерах об'ємом 1–10 м³ із контролем температури (30–45°C), pH (5,5–6,5) і аерації (0,5–1 vvm). Наприклад, *Lactococcus lactis* культивують при 30°C протягом 18–24 год до щільності 10⁹–10¹⁰ КУО/мл. Для термофільних штамів (*Streptococcus thermophilus*) температура підвищується до 42°C.

Поверхнєве культивування у виробництві заквасок використовується рідше, переважно для специфічних штамів (*Brevibacterium linens*), на твердих субстратах (агар із молочним порошком) [18, 19]

Етап 4 - Концентрація. Після культивування біомасу відокремлюють центрифугуванням (5000 g, 15 хв) або ультрафільтрацією (мембрани 10 кДа). Це дозволяє отримати концентрат із щільністю 10¹¹ КУО/мл, що є стандартом для DVS-культур.

Етап 5 - Стабілізація. Для отримання ліофілізованих заквасок біомасу змішують із кріопротекторами (лактоза 10%, гліцерин 5%) і сушать у вакуумних або ліофільних сушарках при -40°C і тиску 0,1 мбар. Це забезпечує тривалий термін зберігання (до 24 міс. при 4°C).

Альтернативний метод – заморожування при -80°C у рідкому азоті (DVS Frozen). Використовується для заквасок із коротшим терміном зберігання (6–12 міс.) [8, 9, 18].

Етап 6 - Пакування. Закваски пакують у вакуумні алюмінієві пакети

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		12

(100–500 г) для захисту від вологи та кисню (для постачання на підприємства) або у ПЕТ флакони (для роздрібного продажу). Для промислового використання стандартна доза – 1–2 одиниці (УС) на 1000 л молока, що забезпечує активність 10^6 КУО/мл у сироватці.

Глибинне культивування є домінуючим завдяки високій продуктивності та автоматизації, але потребує значних капіталовкладень (ферментери, центрифуги). Поверхнєве культивування дешевше, але менш ефективне через низький вихід біомаси. Сучасні тенденції включають використання біореакторів із іммобілізованими культурами для підвищення продуктивності та зменшення ризиків фагового зараження [9, 18].

1.4 Проблеми, з якими стикаються виробники бактеріальних заквасок для твердих сирів, шляхи їх подолання та інноваційні методи у виробництві

Виробництво бактеріальних заквасок для твердих сирів є складним біотехнологічним процесом, що пов'язаний із низкою викликів, які впливають на якість, стабільність і економічну ефективність продукту. Основні проблеми включають: контамінація та фагове зараження, нестабільність сировини та поживних середовищ, високі енергетичні та економічні витрати, обмежений термін зберігання та логістичні складнощі, недостатня стійкість штамів до промислових умов, недостатність локальних технологій в Україні.

Контамінація та фагове зараження. Молочнокислі бактерії (*Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*), що використовуються в заквасках, є чутливими до бактеріофагів, які можуть призвести до зниження активності культур або повного припинення ферментації. За даними літератури, фагове зараження може спричинити втрати до 20% партії закваски, що є серйозною проблемою для промислового виробництва [10, 14].

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		13

Нестабільність сировини та поживних середовищ. Якість поживного середовища (лактоза, пептон, мінеральні солі) залежить від постачальників, що може впливати на ріст бактерій. В Україні, де сировина часто має варіабельний склад (наприклад, молочний порошок із різним вмістом білка), це призводить до нестабільного виходу біомаси (варіації до 15% між партіями) [12].

Високі енергетичні та економічні витрати. Процеси культивування (ферментери при 30–45°C), концентрації (центрифугування при 5000 g), стабілізації (ліофілізація при -40°C) та пакування потребують значних енерговитрат. Наприклад, ліофілізація 1 кг закваски споживає до 10 кВт·год, що підвищує собівартість продукту (до 50–70 дол. США/кг) [17, 18].

Обмежений термін зберігання та логістичні складнощі. Заморожені закваски (DVS Frozen) мають термін зберігання 6–12 міс. при -80°C, а ліофілізовані – до 24 міс. при 4°C. Підтримання холодового ланцюга в Україні, де логістична інфраструктура часто недостатньо розвинена, призводить до втрати активності заквасок (до 30% КУО/мл за місяць при +20°C) [10, 17].

Недостатня стійкість штамів до промислових умов. Бактерії можуть втрачати активність через стресові умови (високі температури, зміни рН, механічні впливи під час центрифугування). Наприклад, *Lactococcus lactis* втрачає до 25% активності після центрифугування без належного кріопротектора [13].

Відсутність локальних технологій в Україні. Імпортозалежність (70% заквасок імпортується) та недостатня кількість біотехнологічних компаній, що спеціалізуються на заквасках, ускладнюють локалізацію виробництва. Вітчизняні підприємства, такі як ПАТ «Молочний альянс», стикаються з проблемами адаптації імпортних технологій до місцевих умов (сировина, обладнання).

Для мінімізації зазначених проблем виробники можуть застосовувати низку стратегій, які поєднують технологічні, організаційні та економічні

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		14

підходи.

Для запобігання фаговому зараженню використовують такі підходи, як ротація штамів, використання фагостійких штамів, стерильність виробництва.

Впровадження ротації штамів. Використання різних комбінацій (*Lactococcus lactis subsp. cremoris* та *subsp. lactis*) у кожній партії зменшує ризик накопичення фагів.

Використання фагостійких штамів - наприклад, штами з CRISPR-Cas системами можуть протистояти фагам.

Стерильність виробництва - НЕРА-фільтрація повітря (<10 КУО/м³) та обробка обладнання 1% NaOCl або озонуванням (30 хв) знижують ризик контамінації [14].

Для оптимізації поживного середовища застосовують стандартизацію сировини (використання сертифікованих постачальників із контролем вмісту лактози (20–30 г/л) та білка (10–15 г/л)), синтетичні середовища (наприклад, середовище з лактозою, пептоном і K₂HPO₄ забезпечує стабільний ріст (*Lactococcus lactis* до 10⁹ КУО/мл за 18 год)), додавання буферів (наприклад, NaHCO₃ (2–5 г/л) підтримує pH 6,0–6,5, що оптимально для термофільних штамів (*Streptococcus thermophilus*)) [19].

Для зниження енерговитрат перспективними є: енергоефективне обладнання (використання ферментерів із рекуперацією тепла (зменшення витрат на 15%) та центрифуг із низьким енергоспоживанням (3000 g замість 5000 g)), альтернативні методи стабілізації (спрей-сушіння замість ліофілізації (енергія 4 кВт·год/кг) для штамів із меншою чутливістю до температури (*Lactobacillus helveticus*), використання відновлюваних джерел (сонячні панелі для живлення сушарок (зниження викидів CO₂ на 20%)) [2, 8, 9, 12].

Для поліпшення логістики та зберігання заквасок впроваджують ліофілізовані форми - вони зберігаються при 4°C (24 місяці) і не потребують складного холодового ланцюги; використання кріопротекторів (додавання лактози (10%) і гліцерину (5%)) підвищує стабільність заморожених заквасок

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		15

(втрата активності <10% за 12 міс.). Перспективним є локалізація виробництва за рахунок створення регіональних центрів (наприклад, у Вінницькій області для ПАТ «Молочний альянс»), що скорочує транспортні витрати на 30% [18, 19].

Підвищення стійкості штамів досягається селекцією штамів (відбір бактерій із вищою стійкістю до температур (40–45°C) і механічного стресу (наприклад, *Streptococcus thermophilus* із мутаціями в системі теплового шоку)), адаптацією перед культивуванням (поступове підвищення температури (з 30°C до 42°C) у процесі росту підвищує виживаність *Lactococcus lactis* на 15%), додаванням антиоксидантів (аскорбінова кислота (0,5 г/л) у середовище зменшує оксидативний стрес під час центрифугування) [13, 14].

Розвиток локальних технологій в Україні можливий за рахунок співпраці з біотехнологічними компаніями (наприклад, можлива співпраця із закордонними виробниками, отримання гранту на власний стартап, співпраця із біотехнологічними компаніями, які займаються проєктуванням, наприклад, залучення ENGENIUM GROUP для адаптації технологій до місцевих умов), державній підтримці (наприклад, субсидії на закупівлю ферментерів (10–50 м³) і центрифуг, що знизить капітальні витрати на 20%), навчанню персоналу (впровадження курсів із HACCP та біотехнологій для працівників молочних заводів) та впровадженню інноваційних методів у виробництві заквасок.

Сучасні біотехнологічні підходи дозволяють вирішити багато проблем традиційного виробництва заквасок, підвищуючи їхню ефективність, якість і економічну доцільність. До ключових інновацій у сфері виробництва заквасок відносяться:

1. Використання іммобілізованих культур в біореакторах. Бактерії іммобілізуються на носіях (альгінат кальцію, гель каррагінану), що дозволяє проводити безперервне культивування у біореакторах. Це зменшує ризик фагового зараження (на 50%) і підвищує вихід біомаси (до 10¹¹ КУО/мл за 48

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		16

год). Наприклад, іммобілізовані *Lactococcus lactis* зберігають активність протягом 10 циклів без втрати продуктивності [22].

2. Генетична модифікація штамів. Використання CRISPR-Cas9 для введення фагостійкості та підвищення кислотоутворювальної активності. Наприклад, генетично модифіковані штами *Lactococcus lactis* із посиленням синтезом лактату (на 20%) уже застосовуються в Європі (Chr. Hansen, 2024). В Україні це потребує регуляторного схвалення (Закон України №2496-VIII) [26, 28].

3. Мікрокапсулювання бактерій. Закваски інкапсулюють у матриці з альгінату або молочного білка, що підвищує їхню стійкість до температур (до 50°C) і механічного стресу. Це дозволяє зменшити енерговитрати на ліофілізацію (на 30%) і подовжити термін зберігання (до 36 місяців при 10°C). Метод уже використовується Sacco System для заквасок типу DVS [26].

4. Використання біосенсорів для моніторингу. Біосенсиори на основі оптичних волокон дозволяють у реальному часі контролювати концентрацію біомаси (10^9 – 10^{11} КУО/мл), рН (5,5–6,5) і рівень метаболітів (лактат, діацетил). Це підвищує точність процесу (на 25%) і зменшує ризик відхилень [22].

5. Впровадження екологічно чистих технологій. Застосування ферментерів із замкненим циклом води (рециркуляція 90%) та використання біогазу для живлення сушарок (зниження викидів CO₂ на 40%). Наприклад, Danisco впровадила біогазові установки у Данії, що знизило енерговитрати на 15% [26].

6. Штучний інтелект для оптимізації. Алгоритми машинного навчання прогнозують оптимальні умови культивування (температура, рН, аерація) на основі даних про штам і сировину. Це підвищує вихід біомаси на 10–15%.

Таким чином, світовий ринок заквасок демонструє стабільне зростання (5,8%), тоді як український ринок характеризується високою імпортозалежністю (70%), що створює можливості для локалізації

виробництва. Типові мікроорганізми для заквасок твердих сирів включають мезофільні (*Lactococcus lactis*) і термофільні (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus*) штами, які забезпечують кислотоутворення, ароматизацію та дозрівання. Технології виробництва базуються на глибинному культивуванні з подальшою концентрацією (центрифугування, ультрафільтрація) та стабілізацією (ліофілізація, заморожування), що відповідає стандартам якості (ISO 22000). Для України розвиток локального виробництва заквасок є перспективним напрямком, який потребує інвестування в біотехнологічні потужності, адаптації технологій до місцевих умов і співпраці з підприємствами – лідерами галузі.

Виробники заквасок стикаються з проблемами фагового зараження, нестабільності сировини, високих енерговитрат, логістичних складнощів і обмеженої стійкості штамів. Ці виклики можна подолати шляхом ротації штамів, стандартизації сировини, енергоефективного обладнання, локалізації виробництва та селекції стійких бактерій. Інноваційні методи, такі як іммобілізовані культури, мікрокапсулювання, генетична модифікація та використання ШІ, дозволяють підвищити ефективність, знизити витрати та адаптувати технології до потреб українських підприємств. Впровадження цих рішень сприятиме розвитку локального виробництва заквасок і підвищенню конкурентоспроможності молочної промисловості України.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
						18
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

2 ХАРАКТЕРИСТИКА ГОТОВОГО ПРОДУКТУ, СИРОВИНИ, МАТЕРІАЛІВ, НАПІВПРОДУКТІВ

2.1 Характеристика готового продукту

Бактеріальна закваска на основі запропонованого складу, обґрунтування якого буде описано нижче (*Lactococcus lactis subsp. cremoris* 50%, *Lactococcus lactis subsp. lactis* 30%, *Streptococcus thermophilus* 15%, *Lactobacillus helveticus* 5%), є високоякісним біотехнологічним продуктом, призначеним для використання як стартерна культура у виробництві твердих сирів, таких як чеддер, пармезан чи гауда. Закваска позиціонується як проміжний продукт для молочної промисловості, зокрема для вітчизняних підприємств, таких як ПАТ «Молочний альянс» або ТОВ «Клуб сиру», де вона забезпечить стабільність ферментації, ароматизацію та дозрівання сирів. Виробництво закваски в Україні буде економічно вигідним завдяки локалізації сировини (молоко, поживні середовища) і зниженню залежності від імпорту (70% ринку), що дозволить знизити витрати на 20–30% порівняно з імпортними аналогами. Продукт відповідає стандартам ЄС (Regulation (EC) No 852/2004) і може бути сертифікований за ДСТУ ISO 22000:2019, що сприяє його конкурентоспроможності на внутрішньому та зовнішньому ринках.

Фізичні та хімічні властивості

Зовнішній вигляд: Сухий порошок білого або світло-кремового кольору, однорідний, без грудок чи сторонніх включень, що забезпечується завдяки ліофілізації.

Смак і запах: Нейтральний, з легким молочним або слабким ферментативним ароматом, без сторонніх запахів, що відповідає вимогам для стартерних культур.

Розчинність: Висока у молоці чи воді (95–100%) при температурі 30–

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
						19
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

40°C, що полегшує введення в сировину (1–2 УС/1000 л молока).

Вологість: $\leq 5\%$ (гарантує стабільність при зберіганні до 24 місяців).

Зольність: $\leq 8\%$ (залишки мінеральних солей із середовища, контрольовані ультрафільтрацією).

Жири: $< 1\%$ (залишки клітинних мембран, мінімізуються центрифугуванням).

Активність: 10^{11} – 10^{12} КУО/г, що є стандартним показником для DVS-культур.

Біологічні властивості

Мікробіологічний склад:

Lactococcus lactis subsp. cremoris (50%). Забезпечує швидке кислотоутворення (рН знижується до 5,2–5,4 за 6 год), стабілізуючи процес згортання молока.

Lactococcus lactis subsp. lactis (30%). Сприяє ароматизації завдяки синтезу діацетилу (0,1–0,3 мг/л), що додає маслянистий відтінок смаку.

Streptococcus thermophilus (15%). Забезпечує термофільну активність при 40–45°C, прискорюючи ферментацію та підвищуючи стійкість до фагів.

Lactobacillus helveticus (5%). Стимулює протеоліз (виробництво пептидів 10–15% за 30 днів дозрівання), що є критичним для смаку пармезану чи чеддера.

Метаболіти:

Лактат (1–2% маси). Основний продукт ферментації, що сприяє кислотності сиру.

Діацетил (0,1–0,3 мг/л). Ароматична сполука від *L. lactis subsp. lactis*.

Пептиди та амінокислоти (5–10%). Результати протеолізу *L. helveticus*, що впливають на смак і текстуру.

Мікробіологічна чистота:

Загальна кількість мікроорганізмів: $< 10^4$ КУО/г (крім цільових штамів).

Відсутність патогенів (*Salmonella*, *E. coli*, *Listeria monocytogenes*).

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		20

Відсутність фагів ($<10^3$ ПФУ/мл) завдяки стерильному виробництву (НЕРА-фільтрація).

Функціональні властивості

Кислотоутворювальна активність: Зниження рН молока з 6,6 до 5,2–5,4 за 6–8 год при дозі 1 УС/1000 л, що оптимально для згортання.

Ароматизуюча здатність: Синтез діацетилу та пептидів забезпечує комплексний смак із нотами горіха та масла, характерними для твердих сирів.

Протеолітична активність: Виробництво пептидів (молекулярна маса <10 кДа) сприяє дозріванню сиру протягом 6–24 місяців.

Стійкість до фагів: Фагостійкість підвищена завдяки ротації штамів і селекції, втрата активності $<5\%$ за цикл.

Призначення

Закваска призначена для використання в молочній промисловості як стартерна культура для виробництва твердих сирів:

Виробництво чеддера: Забезпечує швидке кислотоутворення та середнє дозрівання (6–12 міс.).

Виробництво пармезану: Підтримує термофільну ферментацію та тривале дозрівання (18–24 міс.).

Виробництво гауди: Додає ароматизацію та стабільну текстуру. Продукт також може бути адаптований для експериментальних сирів із локальними особливостями (наприклад, український гуцульський сир).

Товарна форма

Порошок: Основна форма, отримана шляхом ліофілізації, що забезпечує зручність дозування, тривалий термін зберігання та сумісність із сучасним обладнанням молочних заводів.

Фасування

Для роздрібного продажу: вакуумні алюмінієві пакети: 50 г, 100 г, 250 г із герметичною застібкою для зберігання активності.

Саше: 5 г або 10 г (одноразові порції для малих виробництв або для

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		21

приготування кисломолочних продуктів у домашніх умовах).

Для оптового продажу: Вакуумні пакети: 1 кг, 5 кг, 10 кг для постачання на підприємства.

Упаковка

Матеріали: Алюмінієва фольга або багатошарові пакети (PE/AL/PA), що захищають від вологи, кисню та світла.

Етикетка: Містить назву продукту («Бактеріальна закваска для твердих сирів»), склад (співвідношення штамів), інструкцію з дозування, термін придатності, умови зберігання, сертифікаційні позначки (ISO 22000, HACCP).

Рекомендації щодо дозування

Стандартна доза: 1–2 UC (одиниці культури, 10^{11} КУО) на 1000 л молока, розчинити при 30–40°C перед введенням у сировину.

Для інтенсивного дозрівання (пармезан): 2–3 UC/1000 л із додатковим контролем рН.

Умови зберігання

Температура: 4–8°C (ліофілізована форма) у сухому, темному місці.

Термін придатності: 24 міс. у герметичній упаковці.

2.2 Характеристика сировини

Важливим для створення гарної закваски є раціональна комбінація культур. Для виробництва твердих сирів, таких як чеддер, пармезан або гауда, пропонуємо наступний склад закваски:

Lactococcus lactis subsp. cremoris (50%) - основний штам для швидкого кислотоутворення та стабільної ферментації.

Lactococcus lactis subsp. lactis (30%) - допомагає у формуванні аромату та текстури завдяки цитратному метаболізму.

Streptococcus thermophilus (15%) - забезпечує термофільну активність і прискорює процес дозрівання при підвищених температурах.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
						22
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Lactobacillus helveticus (5%) - сприяє протеолізу та розвитку складного смаку під час тривалого дозрівання.

Пропонований склад обґрунтовується метаболічною та біохімічною активністю кожного штаму:

Lactococcus lactis subsp. cremoris є ключовим штамом для початкового кислотоутворення, що сприяє згортанню молока та формуванню сиру. Його висока частка (50%) гарантує стабільність процесу й контроль рН.

Lactococcus lactis subsp. lactis додає цитрат-метаболізм, який сприяє утворенню діацетилу, надаючи маслянистий аромат, характерний для твердих сирів, таких як гауда.

Streptococcus thermophilus оптимізує процес при температурах 40–45°C, що важливо для твердих сирів, які потребують термічної обробки (наприклад, пармезан), і підвищує стійкість до фагів.

Lactobacillus helveticus у невеликій кількості (5%) стимулює протеоліз, що є критичним для розвитку глибокого смаку під час довготривалого дозрівання (6–24 місяців), як у чеддері чи пармезані [20-23].

Цей склад адаптований до умов українських молочних виробництв, де сировина (молоко) може варіюватися за складом, а обладнання часто потребує гнучкості. Співвідношення штамів забезпечує баланс між швидкістю ферментації, ароматом і текстурою, а також стійкість до бактеріофагів, що є проблемою в промисловому виробництві.

Для виробництва бактеріальної закваски з пропонованим складом (*Lactococcus lactis subsp. cremoris* 50%, *Lactococcus lactis subsp. lactis* 30%, *Streptococcus thermophilus* 15%, *Lactobacillus helveticus* 5%) із застосуванням комбінованого підходу (окреме культивування мезофільних і термофільних штамів із наступним змішуванням), необхідно розробити оптимальні поживні середовища для кожної групи культур. Умови культивування враховують фізіолого-біохімічні особливості штамів, їхні потреби в джерелах вуглецю, азоту, мінеральних речовинах і буферних системах. Нижче наведено склади

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		23

середовищ для окремих груп культур, що є придатним для адаптації на вітчизняних підприємствах.

Середовище для культивування мезофільних штамів (*Lactococcus lactis subsp. cremoris* та *Lactococcus lactis subsp. lactis*). Ці штами вирощують при температурі 28–30°C, рН 6,0–6,3, із аерацією 0,5 vvm протягом 18–24 год до щільності 10^9 – 10^{10} КУО/мл [20].

Джерело вуглецю - лактоза (25 г/л) – основний субстрат для ферментації, забезпечує енергію та синтез лактату.

Джерело азоту - пептон (12 г/л) – джерело амінокислот і пептидів для росту клітин.

Дріжджовий екстракт (5 г/л) – додатковий джерело вітамінів (В-група) і органічного азоту.

Мінеральні компоненти: KH_2PO_4 (2 г/л) – буфер і джерело фосфору; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,5 г/л) – кофактор ферментів і стабілізатор клітинних мембран; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,1 г/л) – стимулює ріст і метаболізм *L. lactis subsp. lactis*.

Додаткові компоненти: натрій цитрат (3 г/л) – стимулює синтез діацетилу *L. lactis subsp. lactis*; аскорбінова кислота (0,5 г/л) – антиоксидант для захисту від оксидативного стресу [13, 14, 23, 25].

Середовище для культивування термофільних штамів (*Streptococcus thermophilus* та *Lactobacillus helveticus*). Ці штами вирощують при температурі 42–45°C, рН 6,2–6,5, із аерацією 0,3 vvm протягом 20–24 год до щільності 10^9 – 10^{10} КУО/мл [25, 27].

Джерело вуглецю - лактоза (20 г/л) – основний субстрат, адаптований до нижчої потреби, ніж у попередньому варіанті, *L. helveticus*.

Джерело азоту – пептон (10 г/л) – базовий джерело амінокислот.

Казеїн-гідролізат (5 г/л) – додатковий білковий компонент для протеолітичної активності *L. helveticus*.

Дріжджовий екстракт (3 г/л) – джерело вітамінів і кофакторів.

Мінеральні компоненти: KH_2PO_4 (2 г/л) – буфер і джерело фосфору;

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
						24
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

MgSO₄·7H₂O (0,5 г/л) – стабілізація мембран; MnSO₄·H₂O (0,2 г/л) – стимулятор росту *S. thermophilus*.

Буферна система: NaHCO₃ (3 г/л) – підтримує pH 6,2–6,5 під час ферментації; CaCO₃ (1 г/л) – додатковий буфер для *L. helveticus* [25, 27].

Обґрунтування складів базується на морфолого-фізіологічних властивостях штамів закваски. Для мезофільних штамів (*L. lactis*) вищий вміст лактози (25 г/л) і цитрату (3 г/л) підтримує кислотоутворення та ароматизацію, аскорбінова кислота захищає від оксидативного стресу під час аерації. Для термофільних штамів (*S. thermophilus*, *L. helveticus*) нижчий вміст лактози (20 г/л) і додавання казеїн-гідролізату (5 г/л) оптимізують протеоліз, буферні системи (NaHCO₃, CaCO₃) компенсують кислотоутворення *L. helveticus*.

Запропоновані середовища забезпечують оптимальні умови для окремого культивування мезофільних і термофільних штамів, враховуючи їхні фізіологічні потреби. Використання локальних ресурсів (молоко, пептон) і контрольована стерилізація роблять технологію придатною для впровадження в Україні.

2.3 Характеристика біологічних об'єктів

Біологічними об'єктами у даній роботі є бактеріальні культури, що входять до складу запропонованої закваски для виробництва твердих сирів: *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (50%), *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (30%), *Streptococcus thermophilus* (15%) та *Lactobacillus helveticus* (5%). Ці штами молочнокислих бактерій (LAB – lactic acid bacteria) обрані завдяки їхній здатності забезпечувати швидке кислотоутворення, ароматизацію, протеоліз та стабільність ферментаційного процесу, що є критичним для виробництва твердих сирів, таких як чеддер, пармезан чи гауда.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		25

Lactococcus lactis subsp. cremoris

Мікроскопічні та морфологічні особливості: грампозитивні коки, діаметром 0,5–1,0 мкм, розташовані парами або короткими ланцюжками (2–6 клітин). При фарбуванні за Грамом – темно-фіолетові (грампозитивні). Нерухомі, не утворюють спор. Колонії на агарі (MRS, M17)- дрібні (1–2 мм), гладкі, округлі, кремового кольору, без пігментації [20].

Генетичні особливості: Розмір геному - 2,5–2,7 млн пар основ (Mbp), G+C вміст 35–36%. Містить плазмиди (2–10 на клітину), що кодують стійкість до фагів і метаболізм лактози (lac-оперон). Висока адаптивність до промислових умов завдяки мутаціям у генах, що кодують β-галактозидазу та лактатдегідрогеназу.

Цитологічні особливості: клітинна стінка - товста пептидогліканова оболонка (20–30% маси клітини), що забезпечує стійкість до осмотичного стресу; метаболізм - гомоферментативний, основний продукт – лактат (до 90% субстрату); відсутність каталази - чутливість до оксидативного стресу, потребує антиоксидантів (наприклад, аскорбінової кислоти) [4, 16].

Умови вирощування: температура - 28–30°C (мезофільний штам, втрата активності при >35°C); pH - 6,0–6,3, швидке зниження до 5,2–5,4 за 6–8 год; середовище - лактоза (25 г/л), пептон (12 г/л), дріжджовий екстракт (5 г/л), K₂HPO₄ (2 г/л), MgSO₄ (0,5 г/л), MnSO₄ (0,1 г/л), натрій цитрат (3 г/л), аскорбінова кислота (0,5 г/л); аерація: 0,5 vvm (обмежений доступ кисню); час культивування: 18–24 год до 10⁹–10¹⁰ КУО/мл [24, 25, 27].

Lactococcus lactis subsp. lactis

Мікроскопічні та морфологічні особливості: грампозитивні коки, діаметром 0,5–1,2 мкм, розташовані парами або ланцюжками (4–8 клітин). Нерухомі, без спор. Дрібні (1–3 мм), гладкі, округлі, кремові, із легким блиском на M17 агарі [13].

Генетичні особливості: геном - 2,5–2,6 Mbp, G+C вміст 35–36%. Містить гени для метаболізму цитрату (cit-оперон), що забезпечує синтез діацетилу

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		26

(0,1–0,3 мг/л). Генетична специфіка - висока фагова чутливість, але менша, ніж у subsp. cremoris, завдяки різноманітності плазмідних генів.

Цитологічні особливості: клітинна стінка - пептидоглікан із тейхоєвими кислотами, стійка до низького рН (до 4,5), метаболізм - гомоферментативний, із додатковим синтезом діацетилу через цитратний шлях.

Чутливість до кисню - помірна, потребує антиоксидантів для захисту.

Умови вирощування: температура - 28–32°C (мезофільний штам), рН: 6,0–6,3, зниження до 5,2 за 6–8 год. Середовище - аналогічне до subsp. cremoris. Аерація - 0,5 vvm. Час культивування - 18–24 год до 10⁹–10¹⁰ КУО/мл [20, 22].

Streptococcus thermophilus

Мікроскопічні та морфологічні особливості: грампозитивні коки, діаметром 0,7–1,0 мкм, розташовані у довгих ланцюжках (10–20 клітин). Нерухомі, без спор. Колонії- дрібні (1–2 мм), округлі, гладкі, білі або кремові на MRS агарі [4, 13, 21].

Генетичні особливості: геном - 1,8–2,0 Mbp, G+C вміст 39–40%; специфічні гени - висока експресія генів ureC (уреаза) для адаптації до кислотного середовища, lacS/lacZ для метаболізму лактози. Природна стійкість до фагів завдяки генам CRISPR-Cas.

Цитологічні особливості: клітинна стінка - пептидоглікан із високим вмістом тейхоєвих кислот, стійкий до температурного стресу [16].

Метаболізм - гомоферментативний, основний продукт – лактат, із низьким синтезом CO₂ [16].

Каталаза - відсутня, але вища стійкість до кисню порівняно з *L. lactis*.

Умови вирощування: температура - 42–45°C (термофільний штам); рН - 6,2–6,8, зниження до 5,5 за 8–10 год; середовище - лактоза (20 г/л), пептон (10 г/л), казеїн-гідролізат (5 г/л), дріжджовий екстракт (3 г/л), KН₂РO₄ (2 г/л), MgSO₄ (0,5 г/л), MnSO₄ (0,2 г/л), NaHCO₃ (3 г/л), CaCO₃ (1 г/л); аерація - 0,3 vvm (низька потреба в кисні); час культивування - 20–24 год до 10⁹–10¹⁰ КУО/мл [13, 25].

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		27

Lactobacillus helveticus

Мікроскопічні та морфологічні особливості: грампозитивні палички, довжиною 2–5 мкм, діаметром 0,5–0,8 мкм, розташовані поодинокі або короткими ланцюжками (2–4 клітини). Нерухомі, без спор. Колонії - дрібні (0,5–1 мм), гладкі, білі, із матовою поверхнею на MRS агарі [23].

Генетичні особливості: геном - 2,0–2,2 Mbp, G+C вміст 36–38%. Висока кількість генів, що кодують протеази (prtH, prtP), забезпечують інтенсивний протеоліз (до 15% пептидів за 30 днів). Гени теплового шоку (hsp) забезпечують терморезистентність.

Цитологічні особливості: клітинна стінка - пептидоглікан із S-шаром, що підвищує адгезію до субстратів.

Метаболізм - гомоферментативний, із високою протеолітичною активністю (розщеплення казеїну).

Чутливість - висока чутливість до кисню, потребує анаеробних умов.

Умови вирощування: температура - 40–45°C (термофільний штам), pH - 5,5–6,0, зниження до 4,8 за 10–12 год, середовище - лактоза (20 г/л), пептон (10 г/л), казеїн-гідролізат (5 г/л), дріжджовий екстракт (3 г/л), KН₂РO₄ (2 г/л), MgSO₄ (0,5 г/л), MnSO₄ (0,2 г/л), NaHCO₃ (3 г/л), CaCO₃ (1 г/л), аерація - 0,3 vvm (низький рівень кисню), час культивування - 20–24 год до 10⁹–10¹⁰ КУО/мл [13, 16, 27].

Запропоновані штами (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus*) є ідеальними біологічними об'єктами для виробництва заквасок завдяки їхнім морфологічним, генетичним і цитологічним особливостям, що забезпечують стабільну ферментацію, ароматизацію та дозрівання твердих сирів. Умови вирощування адаптовані до їхньої фізіології, що дозволяє досягти високої щільності культур (10⁹–10¹⁰ КУО/мл) для подальшого використання в промислових масштабах на підприємствах, таких як ПАТ «Молочний альянс».

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		28

2.4 Біосинтез цільового продукту

Цільовим продуктом у даній роботі є закваска на основі штамів: *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus*. Біосинтез цільового продукту – бактеріальної закваски для твердих сирів на основі запропонованого складу – є складним біотехнологічним процесом, що включає культивування, метаболізм і стабілізацію мікроорганізмів. Використання закваски для виробництва кисломолочних продуктів (твердих сирів) забезпечується унікальним складом метаболітів цих бактерій, тому у цьому розділі наведемо характеристику етапів метаболізму цих бактерій, а етапи отримання закваски розглянемо в технологічній частині.

Усі штами закваски є гомоферментативними молочнокислими бактеріями, тобто основним шляхом метаболізму лактози є гліколіз, що веде до утворення лактату. Проте *L. lactis subsp. lactis* додатково метаболізує цитрат, а *L. helveticus* має виражену протеолітичну активність.

Гомоферментативне молочнокисле бродіння складається із етапів транспорту і розщеплення лактози до глюкози, перетворення глюкози на піруват (гліколіз), перетворення пірувату на лактат (наявність ферменту лактатдегідрогенази) [16, 28].

Етап 1 - Транспорт і розщеплення лактози. Лактоза транспортується через мембрану за допомогою пермеази (LacS). Фермент β-галактозидаза (LacZ) розщеплює лактозу:



Галактоза фосфорилується галактокіназою (GalK) і перетворюється в глюкозо-6-фосфат через галактозо-1-фосфат уридилтрансферазу (GalT) і фосфоглюкомутазу (Pgm).

Етап 2 – Гліколіз (рис. 2.1). Глюкоза фосфорилується глюкокіназою

(Glk) до глюкозо-6-фосфату. Глюкозо-6-фосфат ізомеризується фосфоглюкоізомеразою (Pgi) у фруктозо-6-фосфат. Фруктозо-6-фосфат фосфорилується фосфофруктокіназою (Pfk) до фруктозо-1,6-бісфосфату ($2 \text{ АТФ} \rightarrow 2 \text{ АДФ}$). Фруктозо-1,6-бісфосфат розщеплюється альдолазою (Ald) на гліцеральдегід-3-фосфат (GAP) і дигідроксіацетонфосфат (DHAP). GAP окиснюється гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназою (Gap) до 1,3-бісфосфогліцерату ($2 \text{ NAD}^+ \rightarrow 2 \text{ NADH}$). 1,3-бісфосфогліцерат перетворюється фосфогліцераткіназою (Pkg) у 3-фосфогліцерат ($2 \text{ АДФ} \rightarrow 2 \text{ АТФ}$). 3-фосфогліцерат ізомеризується фосфогліцератмутазою (Pgm) у 2-фосфогліцерат, а потім енолазою (Eno) у фосфоенолпіруват (PEP). PEP перетворюється піруваткіназою (Pyc) у піруват ($2 \text{ АДФ} \rightarrow 2 \text{ АТФ}$).



Рис. 2.1 – Схема гомоферментативного молочнокислого бродіння

Етап 3 - Утворення лактату. Піруват відновлюється лактатдегідрогеназою (Ldh) до лактату:



Загальний вихід: 1 молекула лактози $\rightarrow$ 4 молекули лактату, 2 АТФ (чистий вихід).

Для *L. lactis subsp. lactis* важливим є додатковий шлях - метаболізм цитрату (рис. 2.2) [16, 23, 28].

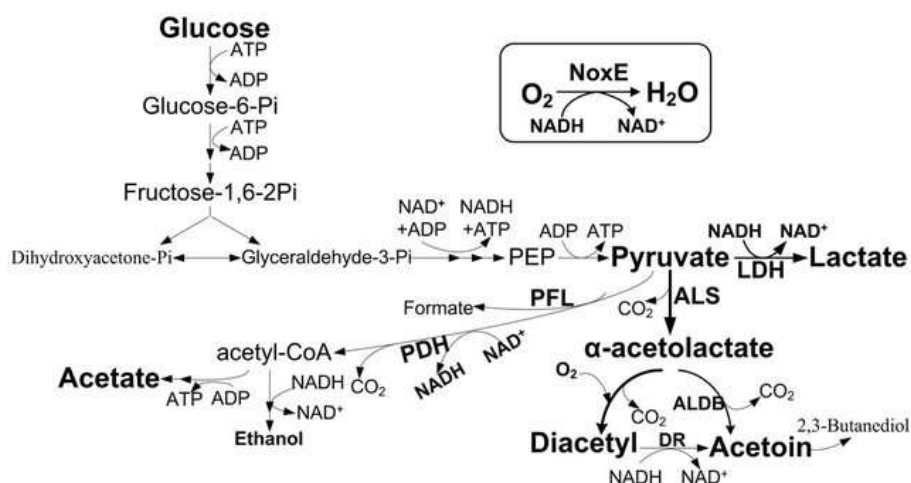


Рис. 2.2 - Метаболічний шлях гліколізу та біосинтезу діацетилу у *L. lactis*: PEP - фосфоенолпіруват; LDH - лактатдегідрогеназа; ALS - α -ацетолактатсинтаза; ALDB - ацетолактатдекарбоксилаза; PDH - піруватдегідрогеназа; DR - діацетилредуктаза; PFL - піруватформіатліаза; NoxE - H_2O -утворююча NADH оксидаза

Етап 1 - Транспорт і розщеплення цитрату. Цитрат транспортується через мембрану за допомогою цитратпермеази (CitP).

Цитрат розщеплюється цитратліазою (CitL) на оксалоацетат і ацетат:



Етап 2 - Утворення пірувату. Оксалоацетат декарбоксилюється оксалоацетатдекарбоксилазою (Oad) до пірувату:



Етап 3 - Синтез діацетилу. Піруват перетворюється на ацетоїн через ацетолактатсинтазу (Als):



Ацетоїн окиснюється до діацетилу за участю ацетоїндегідрогенази

(AcoD):



Вихід: 0,1–0,3 мг/л діацетилу, що додає маслянистий аромат.

Важливим з огляду на застосування закваски для виробництва твердих сирів є додатковий шлях *L. helveticus* – протеоліз, який складається із етапів розщеплення білків, гідроліз білків, метаболізму амінокислот. Протеоліз є важливим шляхом метаболізму молочнокислих бактерій для виробництва кисломолочних продуктів [16, 28].

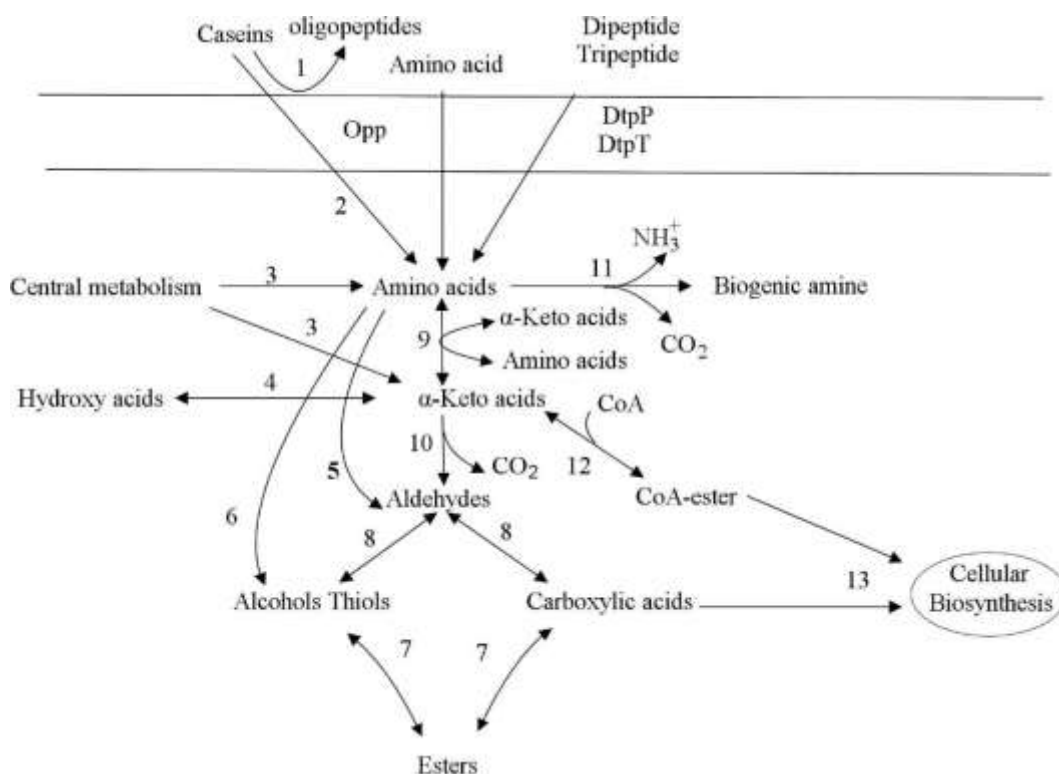


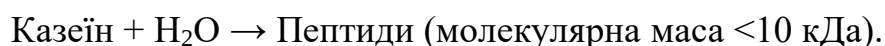
Рис. 2.3 - Розкладання білка та метаболізм амінокислот:

Протеоліз у молочнокислих бактеріях ініціюється протеїназою клітинної оболонки (СЕР), яка розкладає білки на олігопептиди. Другим етапом розкладу білка є перенесення дипептидів, трипептидів та олігопептидів у клітини. У молочнокислих бактеріях виявлено три транспортні системи, а саме: олігопептидну, дипептидну та трипептидну транспортні системи (Opp, DtpP та DtpT відповідно). Родина Per гідролізує дипептиди, трипептиди та олігопептиди на амінокислоти. Метаболізм амінокислот включає дезамінування та декарбоксилювання. Реакція дезамінування утворює різні α-карбоксильні кислоти, які беруть участь у різних метаболізмах у клітинах молочнокислих бактерій. Реакція декарбоксилювання амінокислот утворює біогенні аміни, що головним чином включає транспорт амінокислот у клітину, декарбоксилювання та транспорт за межі клітини після перетворення на біогенні аміни. Трансамінування амінокислот призводить до утворення

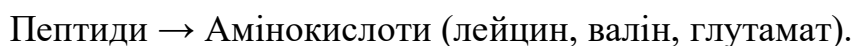
альфа-кетокислот. Альфа-кетокислоти можна перетворити на альдегіди шляхом декарбоксилювання. Альдегіди перетворюються на спирти або карбонові кислоти шляхом дегідрування. Пряме дегідрування альфа-кетокислот призводить до утворення гідроксикислот.

1: протеїназа клітинної оболонки, 2: пептидази, 3: біосинтетичні ферменти,
4: дегідрогеназа, 5: альдолази, 6: ліази, 7: ацилтрансферази естерази, 8: дегідрогеназа,
9: амінотрансферази, 10: декарбоксилаза, 11: деімінази декарбоксилаза,
12: дегідрогеназний комплекс, 13: біосинтетичні ферменти

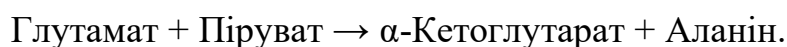
Етап 1- Розщеплення білків. *L. helveticus* секретує протеази (PrtH, PrtP), що гідролізують казеїн до пептидів:



Етап 2 - Транспорт і гідроліз пептидів. Пептиди транспортуються через мембрану за допомогою пептидних транспортерів (Opp). Внутрішньоклітинні пептидази (PepN, PepC) розщеплюють пептиди до амінокислот:



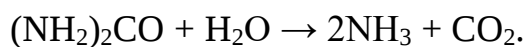
Етап 3 - Метаболізм амінокислот. Амінокислоти дезамінуються амінотрансферазами (AraT):



α -Кетоглутарат використовується в циклі трикарбонових кислот (TCA) для синтезу енергії ($\text{NADH} \rightarrow \text{АТФ}$).

Вихід: 5–10% пептидів і амінокислот, що сприяють смаку сиру.

Особливістю метаболізму *S. thermophilus* є наявність ферменту уреази (UreC), яка розщеплює сечовину до аміаку, нейтралізуючи кислотність:



Це підтримує рН на рівні 5,5–6,0, що корисно для синергії з іншими штамми.

Таким чином, метаболізм штамів закваски базується на гліколізі гомоферментативного бродіння, а також на основі цитратного та діацетильного синтезу і протеолізу, що забезпечує лактат (1–2%), діацетил (0,1–0,3 мг/л) і пептиди (5–10%), необхідні для виробництва твердих сирів.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		33

3 ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

3.1 Розрахунок витрат компонентів

Для вирощування бактеріальних культур запропонованої закваски (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* 50%, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 30%, *Streptococcus thermophilus* 15%, *Lactobacillus helveticus* 5%) кожен штам вирощується окремо у чотирьох генераціях (пробірки, колби, інокулятори, ферментери) на відповідному середовищі – для мезофільних (*L. lactis* subsp. *cremoris* і subsp. *lactis*) та термофільних (*S. thermophilus* і *L. helveticus*) штамів. Вирощування проводиться у чотирьох генераціях (пробірки або колби, інокулятори, посівні апарати, ферментери) для кожної культури. Відповідно до частки культур у заквасці, виробниче культивування буде здійснюватись у ферментерах: *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* – на 1000 л (1 м³), *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* - 600 л (0,6 м³), *Streptococcus thermophilus* - 300 л (0,3 м³), *Lactobacillus helveticus* - 100 л (0,1 м³). Нижче наведено розрахунок потреби у поживних середовищах для обох груп культур із урахуванням раніше визначених складів середовищ (склад поживних середовищ наведений у попередньому розділі), коефіцієнтів заповнення, відсотків інокуляту та потенційних втрат: коефіцієнт заповнення апаратів - 0,6; посівний матеріал - 10%; втрати через краплевиніс та відбір проб - 10% для всіх стадій вирощування культури.

Розрахунок середовища для мезофільних штамів

1. *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*

IV генерація (ферментер, 1 м³):

З врахуванням коефіцієнту заповнення робочий об'єм виробничого ферментеру:

$$V_{\text{р.ф.}} = 1 \text{ м}^3 \times 0,6 = 0,6 \text{ м}^3 = 600 \text{ л.}$$

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		34

Таким чином, за 1 серію утворюється 600 л культуральної рідини *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, яка буде передаватись на об'єднання всіх культур для направлення на концентрування та ліофілізацію.

З урахуванням втрат об'єм культуральної рідини, що подається до виробничого ферментеру на цій стадії:

$$V_{к.р.1} = 600 / (1 - 0,1) = 666,67 \text{ л.}$$

Для цієї кількості культуральної рідини для виробничого ферментеру потрібні наступні об'єми живильного середовища та посівного матеріалу:

Живильне середовище: $V_{ж.с.1} = 666,67 / 1,1 = 606,06 \text{ л.}$

Посівний матеріал: $V_{п.м.1} = 666,67 - 606,06 = 60,61 \text{ л.}$

III генерація (посівний апарат):

Об'єм посівного матеріалу для IV генерації є кількістю культуральної рідини, що утворюється протягом культивування у посівному апараті - 60,61 л.

З урахуванням втрат об'єм культуральної рідини, що подається до посівного апарату на цій стадії:

$$V_{к.р.2} = 60,61 / 0,9 = 67,34 \text{ л.}$$

Для цієї кількості культуральної рідини для посівного апарату потрібні наступні об'єми живильного середовища та посівного матеріалу:

Живильне середовище: $V_{ж.с.2} = 67,34 / 1,1 = 61,22 \text{ л.}$

Посівний матеріал: $V_{п.м.2} = 67,34 - 61,22 = 6,12 \text{ л.}$

II генерація (інокулятор):

Об'єм посівного матеріалу для III генерації є кількістю культуральної рідини, що утворюється протягом культивування у інокуляторі – 6,12 л.

З урахуванням втрат об'єм культуральної рідини, що подається до інокулятора на цій стадії:

$$V_{к.р.3} = 6,12 / 0,9 = 6,8 \text{ л.}$$

Для цієї кількості культуральної рідини для інокулятора потрібні наступні об'єми живильного середовища та посівного матеріалу:

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		35

Живильне середовище: $V_{ж.с.3} = 6,8 / 1,1 = 6,18$ л.

Посівний матеріал: $V_{п.м.3} = 6,8 - 6,18 = 0,62$ л.

I генерація (пробірки/колби):

Об'єм посівного матеріалу для II генерації є кількістю культуральної рідини, що утворюється протягом культивування у колбах – 0,62 л.

З урахуванням втрат об'єм культуральної рідини, що подається до колб на цій стадії:

$$V_{к.р.4} = 0,62 / 0,9 = 0,69 \text{ л.}$$

Для цієї кількості культуральної рідини для колб потрібні наступні об'єми живильного середовища та посівного матеріалу:

Живильне середовище: $V_{ж.с.4} = 0,69 / 1,1 = 0,63$ л.

Загальна потреба у середовищі для мезофільних штамів для *Lactococcus lactis subsp. cremoris*:

$$V_{ж.с.} = 606,06 + 61,22 + 6,18 + 0,63 = 674,09 \text{ л.}$$

За такою схемою проведемо розрахунки потреб у живильних середовищах для інших культур.

2. *Lactococcus lactis subsp. lactis*

IV генерація (ферментер, 0,6 м³):

Робочий об'єм: $0,6 \text{ м}^3 \times 0,6 = 0,36 \text{ м}^3 = 360$ л.

З урахуванням втрат: $V_{к.р.1} = 360 / 0,9 = 400$ л.

Живильне середовище: $V_{ж.с.1} = 400 / 1,1 = 363,64$ л.

Посівний матеріал: $V_{п.м.1} = 400 - 363,64 = 36,36$ л.

III генерація (посівний апарат):

$V_{к.р.2} = 36,36 / 0,9 = 40,4$ л.

$V_{ж.с.2} = 40,4 / 1,1 = 36,73$ л.

$V_{п.м.2} = 40,4 - 36,73 = 3,67$ л.

II генерація (інокулятор):

$V_{к.р.3} = 3,67 / 0,9 = 4,08$ л.

$V_{ж.с.3} = 4,08 / 1,1 = 3,71$ л.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
						36
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

$$V_{п.м.3} = 4,08 - 3,71 = 0,37 \text{ л.}$$

I генерація (пробірки/колби):

$$V_{к.р.4} = 0,37 / 0,9 = 0,41 \text{ л.}$$

$$V_{ж.с.4} = 0,41 / 1,1 = 0,37 \text{ л.}$$

Загальна потреба:

$$V_{ж.с.} = 363,64 + 36,73 + 3,71 + 0,37 = 404,45 \text{ л.}$$

Розрахунок середовища для термофільних штамів

3. Streptococcus thermophilus

IV генерація (ферментер, 0,3 м³):

$$\text{Робочий об'єм: } 0,3 \text{ м}^3 \times 0,6 = 0,18 \text{ м}^3 = 180 \text{ л.}$$

$$V_{к.р.1} = 180 / 0,9 = 200 \text{ л.}$$

$$V_{ж.с.1} = 200 / 1,1 = 181,82 \text{ л.}$$

$$V_{п.м.1} = 200 - 181,82 = 18,18 \text{ л.}$$

III генерація (посівний апарат):

$$V_{к.р.2} = 18,18 / 0,9 = 20,2 \text{ л.}$$

$$V_{ж.с.2} = 20,2 / 1,1 = 18,36 \text{ л.}$$

$$V_{п.м.2} = 20,2 - 18,36 = 1,84 \text{ л.}$$

II генерація (інокулятор):

$$V_{к.р.3} = 1,84 / 0,9 = 2,04 \text{ л.}$$

$$V_{ж.с.3} = 2,04 / 1,1 = 1,85 \text{ л.}$$

$$V_{п.м.3} = 2,04 - 1,85 = 0,19 \text{ л.}$$

I генерація (пробірки/колби):

$$V_{к.р.4} = 0,19 / 0,9 = 0,21 \text{ л.}$$

$$V_{ж.с.4} = 0,21 / 1,1 = 0,19 \text{ л.}$$

Загальна потреба:

$$V_{ж.с.} = 181,82 + 18,36 + 1,85 + 0,19 = 202,22 \text{ л.}$$

4. Lactobacillus helveticus

IV генерація (ферментер, 0,1 м³):

$$\text{Робочий об'єм: } 0,1 \text{ м}^3 \times 0,6 = 0,06 \text{ м}^3 = 60 \text{ л.}$$

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
						37
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

$$V_{к.р.1} = 60 / 0,9 = 66,67 \text{ л.}$$

$$V_{ж.с.1} = 66,67 / 1,1 = 60,61 \text{ л.}$$

$$V_{п.м.1} = 66,67 - 60,61 = 6,06 \text{ л.}$$

III генерація (посівний апарат):

$$V_{к.р.2} = 6,06 / 0,9 = 6,73 \text{ л.}$$

$$V_{ж.с.2} = 6,73 / 1,1 = 6,12 \text{ л.}$$

$$V_{п.м.2} = 6,73 - 6,12 = 0,61 \text{ л.}$$

II генерація (інокулятор):

$$V_{к.р.3} = 0,61 / 0,9 = 0,68 \text{ л.}$$

$$V_{ж.с.3} = 0,68 / 1,1 = 0,62 \text{ л.}$$

$$V_{п.м.3} = 0,68 - 0,62 = 0,06 \text{ л.}$$

I генерація (пробірки/колби):

$$V_{к.р.4} = 0,06 / 0,9 = 0,07 \text{ л.}$$

$$V_{ж.с.4} = 0,07 / 1,1 = 0,06 \text{ л.}$$

Загальна потреба:

$$V_{ж.с.} = 60,61 + 6,12 + 0,62 + 0,06 = 67,41 \text{ л.}$$

Таким чином потреба у середовищах для вирощування культур:

Lactococcus lactis subsp. cremoris - 674,09 л

Lactococcus lactis subsp. lactis - 404,45 л

Streptococcus thermophilus - 202,22 л

Lactobacillus helveticus - 67,41 л

Загальна потреба у середовищі для мезофільних бактерій:

$$V_{ж.с.(\text{мез})} = 674,09 + 404,45 = 1078,54 \text{ л}$$

Загальна потреба у середовищі для термофільних бактерій:

$$V_{ж.с.(\text{терм})} = 202,22 + 67,41 = 269,63 \text{ л.}$$

Витрати компонентів для обох середовищ наведено у табл. 3.1 та 3.2.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
						38
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Таблиця 3.1 – Загальні витрати компонентів середовища для мезофільних штамів (*Lactococcus lactis subsp. cremoris* та *subsp. lactis*) на 1 серію

№	Компонент середовища	Витрати на 1 л, г	Витрати на 1 серію, г
1	Лактоза	25,0	$25,0 \times 1078,54 = 26963,50$
2	Пептон	12,0	$12,0 \times 1078,54 = 12942,48$
3	Дріжджовий екстракт	5,0	$5,0 \times 1078,54 = 5392,70$
4	KH_2PO_4	2,0	$2,0 \times 1078,54 = 2157,08$
5	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,5	$0,5 \times 1078,54 = 539,27$
6	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,1	$0,1 \times 1078,54 = 107,85$
7	Натрій цитрат	3,0	$3,0 \times 1078,54 = 3235,62$
8	Аскорбінова кислота	0,5	$0,5 \times 1078,54 = 539,27$
9	Вода	952,9	$952,9 \times 1078,54 = 1027712,17$
	Разом:	1000,0	1078540,00

Таблиця 3.2 – Витрати компонентів середовища для термофільних штамів (*Streptococcus thermophilus* та *Lactobacillus helveticus*) на 1 серію

№	Компонент середовища	Витрати на 1 л, г	Витрати на 1 серію, г
1	Лактоза	20,0	$20,0 \times 269,63 = 5392,60$
2	Пептон	10,0	$10,0 \times 269,63 = 2696,30$
3	Казеїн-гідролізат	5,0	$5,0 \times 269,63 = 1348,15$
4	Дріжджовий екстракт	3,0	$3,0 \times 269,63 = 808,89$
5	KH_2PO_4	2,0	$2,0 \times 269,63 = 539,26$
6	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,5	$0,5 \times 269,63 = 134,82$
7	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,2	$0,2 \times 269,63 = 53,93$
8	NaHCO_3	3,0	$3,0 \times 269,63 = 808,89$
9	CaCO_3	1,0	$1,0 \times 269,63 = 269,63$
10	Вода	955,3	$955,3 \times 269,63 = 257607,84$
	Разом:	1000,0	269630,00

Для розрахунку кількості готового продукту (закваски) після вирощування культур, змішування культуральних рідин, концентрації центрифугуванням, додавання захисного середовища та ліофілізації використаємо попередньо розраховані дані та коефіцієнти типових біотехнологічних процесів. Типовий вихід біомаси після центрифугування:

10–20% від об'єму культуральної рідини (приймаємо 15% як середнє значення, що характерно для молочнокислих бактерій). Втрати при центрифугуванні: 5–10% біомаси (приймаємо 5%). Захисне середовище (цукроза, молочна кислота, стабілізатори) додається у співвідношенні 1:1 до концентрованої біомаси перед ліофілізацією. Залишкова вологість - 2%, 98% маси готового продукту становить суха речовина. Вихід сухої речовини: традиційно 5–10% від об'єму суміші (приймаємо 7% як середнє значення), але корегуємо з урахуванням вологості. Втрати при ліофілізації: 5%. Густину суміші перед ліофілізацією приймаємо ≈ 1 кг/л, а після ліофілізації маса розраховується з урахуванням вологості.

Об'єми культуральної рідини після вирощування (IV генерація): *Lactococcus lactis subsp. cremoris* - 600 л, *Lactococcus lactis subsp. lactis* - 360 л, *Streptococcus thermophilus* - 180 л, *Lactobacillus helveticus* - 60 л.

Загальний об'єм перед змішуванням: $600 + 360 + 180 + 60 = 1200$ л.

На стадії змішування культур загальний об'єм 1200 л відповідає цільовому складу закваски (50%:30%:15%:5%).

На стадії концентрації центрифугуванням вихід біомаси:

$$V_6 = 0,15 \times 1200 = 180 \text{ л (маса } \approx 180 \text{ кг)}.$$

З урахуванням втрат $V_{в.} = 0,05 \times 180 = 9$ л, чистий об'єм біомаси $V_{б.в.} = 180 - 9 = 171$ л (маса ≈ 171 кг).

На стадії додавання захисного середовища загальна маса суміші: $m_c = 171 + 171 = 342$ кг.

На стадії ліофілізації вихід сухої речовини: 7% від 342 кг $= 0,07 \times 342 \approx 23,94$ кг. З урахуванням втрати: 5% від 23,94 кг $= 0,05 \times 23,94 \approx 1,20$ кг. Тоді, чистий вихід сухої речовини: $23,94 - 1,20 = 22,74$ кг. Залишкова вологість - 2% від кінцевої маси, тоді води: 2% від 23,20 кг $= 0,02 \times 23,20 \approx 0,46$ кг.

Таким чином, загальна кількість готового продукту (закваски) - 23,20 кг.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		40

3.2 Обґрунтування та вибір обладнання

На ділянці ферментації основним обладнанням є ферментери, посівні апарати, інокулятори [18, 19].

Для вирощування *Lactococcus lactis subsp. cremoris* використовується:

IV генерація - ферментер на 1 м³ з такими стандартними параметрами:

Діаметр апарата (D): 1200 мм. Площа поверхні теплообміну (F): 3,4 м².

Діаметр валу мішалки (d): 50 мм (з діапазону 50, 65 мм). Висота рівня рідини: $\phi = 0,6$, H = 0,76 м, креслення апарату наведено в додатках.

III генерація - посівний апарат:

Об'єм культуральної рідини: 67,34 л = 0,06734 м³.

Номінальний об'єм: $0,06734 / 0,6 = 0,112$ м³, обираємо стандартний 0,16 м³, з такими параметрами:

Діаметр апарата (D): 630 мм. Площа поверхні теплообміну (F): 1,0 м².

Діаметр валу мішалки (d): 40 мм. Висота рівня рідини: $\phi = 0,6$, H = 0,48 м.

II генерація - інокулятор:

Об'єм культуральної рідини: 6,8 л = 0,0068 м³.

Номінальний об'єм: $0,0068 / 0,6 = 0,0113$ м³, обираємо стандартний 0,016 м³ з такими параметрами:

Діаметр апарата (D): 250 мм. Площа поверхні теплообміну (F): 0,2 м².

Діаметр валу мішалки (d): 20 мм. Висота рівня рідини: $\phi = 0,6$, H = 0,24 м.

Для вирощування *Lactococcus lactis subsp. lactis* використовується:

IV генерація - ферментер 0,6 м³ з такими параметрами:

Діаметр апарата (D): 1000 мм. Площа поверхні теплообміну (F): 2,5 м².

Діаметр валу мішалки (d): 50 мм (з діапазону 50, 65 мм). Висота рівня рідини: $\phi = 0,6$, H = 0,64 м.

III генерація - посівний апарат:

Об'єм культуральної рідини: 40,4 л = 0,0404 м³.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
						41
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Номінальний об'єм: $0,0404 / 0,6 = 0,0673 \text{ м}^3$, обираємо $0,1 \text{ м}^3$ (стандарт).

Діаметр апарата (D): 500 мм. Площа поверхні теплообміну (F): $0,7 \text{ м}^2$.

Діаметр валу мішалки (d): 40 мм. Висота рівня рідини: $\varphi = 0,6$, $H = 0,42 \text{ м}$.

II генерація - інокулятор:

Об'єм культуральної рідини: $4,08 \text{ л} = 0,00408 \text{ м}^3$.

Номінальний об'єм: $0,00408 / 0,6 = 0,0068 \text{ м}^3$, обираємо $0,01 \text{ м}^3$ (стандарт).

Діаметр апарата (D): 200 мм. Площа поверхні теплообміну (F): $0,15 \text{ м}^2$.

Діаметр валу мішалки (d): 20 мм. Висота рівня рідини: $\varphi = 0,6$, $H = 0,18 \text{ м}$.

Для вирощування *Streptococcus thermophilus* використовується:

IV генерація - ферментер, $0,3 \text{ м}^3$ з такими параметрами:

Діаметр апарата (D): 800 мм. Площа поверхні теплообміну (F): $1,7 \text{ м}^2$.

Діаметр валу мішалки (d): 40 мм. Висота рівня рідини: $\varphi = 0,6$, $H = 0,54 \text{ м}$.

III генерація - посівний апарат:

Об'єм культуральної рідини: $20,2 \text{ л} = 0,0202 \text{ м}^3$.

Номінальний об'єм: $0,0202 / 0,6 = 0,0337 \text{ м}^3$, обираємо $0,05 \text{ м}^3$ (стандарт).

Діаметр апарата (D): 400 мм. Площа поверхні теплообміну (F): $0,5 \text{ м}^2$.

Діаметр валу мішалки (d): 30 мм. Висота рівня рідини: $\varphi = 0,6$, $H = 0,36 \text{ м}$.

II генерація - інокулятор:

Об'єм культуральної рідини: $2,04 \text{ л} = 0,00204 \text{ м}^3$.

Номінальний об'єм: $0,00204 / 0,6 = 0,0034 \text{ м}^3$, обираємо $0,005 \text{ м}^3$ (стандарт).

Діаметр апарата (D): 160 мм. Площа поверхні теплообміну (F): $0,1 \text{ м}^2$.

Діаметр валу мішалки (d): 20 мм. Висота рівня рідини: $\varphi = 0,6$, $H = 0,12 \text{ м}$.

Для вирощування *Lactobacillus helveticus* використовується:

IV генерація - ферментер, $0,1 \text{ м}^3$:

Діаметр апарата (D): 500 мм. Площа поверхні теплообміну (F): $0,7 \text{ м}^2$.

Діаметр валу мішалки (d): 40 мм. Висота рівня рідини: $\varphi = 0,6$, $H = 0,42 \text{ м}$.

III генерація - посівний апарат:

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
						42
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Об'єм культуральної рідини: $6,73 \text{ л} = 0,00673 \text{ м}^3$.

Номинальний об'єм: $0,00673 / 0,6 = 0,0112 \text{ м}^3$, обираємо $0,016 \text{ м}^3$ (стандарт).

Діаметр апарата (D): 250 мм. Площа поверхні теплообміну (F): $0,2 \text{ м}^2$.

Діаметр валу мішалки (d): 20 мм. Висота рівня рідини: $\varphi = 0,6$, $H = 0,24 \text{ м}$.

II генерація - інокулятор:

Об'єм культуральної рідини: $0,68 \text{ л} = 0,00068 \text{ м}^3$.

Номинальний об'єм: $0,00068 / 0,6 = 0,00113 \text{ м}^3$, обираємо $0,002 \text{ м}^3$ (стандарт).

Для малих об'ємів (інокулятори, 2–16 л): Використаємо Solaris Biotech JUPITER, який підтримує автоклавні посудини об'ємом від 2 л до 10 л (робочий об'єм до 7,5 л), а для 16 л — Solaris Biotech GENESIS, який підтримує об'єм до 20 л (робочий до 15 л).

Для середніх об'ємів (посівні апарати, 16–160 л): Використаємо Solaris Biotech M-Series, яка підтримує об'єми від 30 л до 200 л (робочий об'єм до 150 л).

Для великих об'ємів (ферментери, 100–1000 л): Використаємо Solaris Biotech I-Series, яка підтримує об'єми від 100 л до 30 000 л (робочий об'єм до 70%).

3.3 Опис технологічного процесу

3.3.1 Опис стадій технологічного процесу

Перед початком процесу виробництва забезпечують відповідні умови виробництва. Підготовка обладнання: Використовується обладнання Solaris Biotech: JUPITER (для інокуляторів 2–10 л), GENESIS (16 л), M-Series (посівні апарати 30–200 л), I-Series (ферментери 100–1000 л). Інокулятори (JUPITER, GENESIS) стерилізуються автоклавуванням при 121°C , 1,2 бар, 20 хв. Посівні

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		43

апарати (M-Series) і ферментери (I-Series) стерилізуються за допомогою SIP (Steam-In-Place) при 121°C, 1,2 бар, 30 хв. Збірники (5–1200 л) і трубопроводи очищаються CIP (Clean-In-Place) з використанням 2% розчину NaOH, потім промиваються водою. Перевіряється справність насосів Watson-Marlow (120U/DV, 313, 520, 620) для подачі середовища та видалення відходів.

Температура в цеху 22–25°C, вологість 50–60%, персонал працює в стерильному одязі, використовуються HEPA-фільтри для повітря.

Стадія 1. Приготування живильного середовища для мезофільних бактерій

Вода (914,78 кг) нагрівається до 40°C у стерильному змішувальному реакторі з водяною сорочкою (Solaris Biotech I-Series, 1600 л). Додаються компоненти в такій послідовності: лактоза, пептон, дріжджовий екстракт, KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, натрій цитрат, аскорбінова кислота. Суміш перемішується при 50 об/хв протягом 30 хв до повного розчинення. Для стерилізації до водяної сорочки подається пара під тиском 1,2 бар, температура підвищується до 121°C. Автоклавування проводиться при 121°C протягом 20 хв. Після стерилізації реактор охолоджується до 30°C шляхом циркуляції холодної води через сорочку. Середовище зберігається в реакторі в стерильних умовах до використання.

Стадія 2. Приготування живильного для термофільних бактерій

Вода (229,27 кг) нагрівається до 40°C у стерильному змішувальному реакторі з водяною сорочкою (Solaris Biotech I-Series, 300 л). Додаються компоненти в такій послідовності: лактоза, пептон, казеїн-гідролізат, дріжджовий екстракт, KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, NaHCO_3 , CaCO_3 . Суміш перемішується при 50 об/хв протягом 30 хв до повного розчинення, до водяної сорочки подається пара під тиском 1,2 бар, температура підвищується до 121°C. Автоклавування проводиться при 121°C протягом 20 хв. Після стерилізації реактор охолоджується до 30°C шляхом циркуляції холодної води через сорочку. Середовище зберігається в реакторі в стерильних умовах до

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		44

використання.

Стадія 3. Вирощування культур I генерації

Початковий посівний матеріал- ліофілізовані культури кожного штаму (0,1 г/штам) розводяться в 10 мл стерильного фізіологічного розчину. Переноситься в колби (100 мл) з відповідним живильним середовищем. Колби вирощують у термостаті за умов: *Lactococcus lactis subsp. cremoris* і *subsp. lactis*: 30°C, pH 6,5, без аерації, 18 год, *Streptococcus thermophilus* і *Lactobacillus helveticus*: 42°C, pH 6,2, без аерації, 16 год ((з автоматичним підтриманням, корекція за допомогою додавання 2N NaOH або 2N HCl)).

Стадія 4. Вирощування культур II генерації

Для відповідної культури II генерації використовують відповідні інокулятори: 16 л (*L. lactis subsp. cremoris*), 10 л (*L. lactis subsp. lactis*), 5 л (*S. thermophilus*), 2 л (*L. helveticus*). Обладнання: Solaris JUPITER (2–10 л), GENESIS (16 л). Середовище вноситься насосами Watson-Marlow 120U/DV. До інокуляторів вноситься відповідне середовище, засівається підготовленим посівним матеріалом (1 %) та вирощуються за умов: мезофільні: 30°C, pH 6,5, обертання 50 об/хв, без аерації, 18 год, термофільні: 42°C, pH 6,2, обертання 50 об/хв, без аерації, 16 год.

Стадія 5. Вирощування культур III генерації

Для відповідної культури III генерації використовують відповідні посівні апарати: 160 л (*L. lactis subsp. cremoris*), 100 л (*L. lactis subsp. lactis*), 50 л (*S. thermophilus*), 16 л (*L. helveticus*). Обладнання: Solaris M-Series (30–200 л). Середовище вноситься насосами Watson-Marlow 313. Посів - 10% від об'єму. Умови: як у II генерації, тривалість 18 год (мезофільні) і 16 год (термофільні).

Стадія 6. Вирощування культур IV генерації

Для відповідної культури IV генерації використовують відповідні апарати: 1000 л (*L. lactis subsp. cremoris*), 600 л (*L. lactis subsp. lactis*), 300 л (*S. thermophilus*), 100 л (*L. helveticus*). Обладнання: Solaris I-Series (100–1000 л). Середовище вноситься насосами Watson-Marlow 520. Посів: 10% від об'єму.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		45

Умови: Як у II–III генераціях, тривалість 18 год (мезофільні) і 16 год (термофільні).

Стадія 7. Змішування культур

Загальний об'єм після IV генерації: $600 + 360 + 180 + 60 = 1200$ л.
Співвідношення: *L. lactis* subsp. *cremoris*: 50% (600 л), *L. lactis* subsp. *lactis*: 30% (360 л), *S. thermophilus*: 15% (180 л), *L. helveticus*: 5% (60 л).

Культури переносяться в стерильний змішувальний резервуар (1500 л) насосами Watson-Marlow 620, перемішуються при 30 об/хв, 25°C, 1 год.

Стадія 8. Концентрування змішаної культури

Суміш (1200 л) подається в центрифугу (GEA Westfalia Separator) при 5000 g, 4°C, 2 год. Вихід біомаси 180 л, з урахуванням втрат 171 л. Надосадова рідина (1029 л) видаляється насосами Watson-Marlow 620.

Стадія 9. Додавання захисного середовища

Склад захисного середовища: Цукроза (10 г/л), молочна кислота (2 г/л), стабілізатори (1 г/л), вода (987 г/л). Захисне середовище додається до біомаси в змішувальному резервуарі, перемішується при 30 об/хв, 4°C, 30 хв. Загальна маса суміші 342 кг.

Стадія 10. Ліофілізація концентрату біомаси

Суміш (342 кг) заморожується при -40°C і ліофілізується у промисловому ліофілізаторі (GEA Lyophil) при тиску 0,1 мбар, первинна сушка (-30°C, 48 годин), вторинна сушка (20°C, 12 годин). Вихід сухої речовини 23,94 кг, з урахуванням втрати (1,20 кг), чистий вихід сухої речовини 22,74 кг. Залишкова вологість: 2%.

Стадія 11. Фасування та пакування закваски

Ліофілізований продукт (23,20 кг) фасується в асептичних умовах у вакуумні пакети по 0,5 кг (46 пакетів). Умови: Температура 4°C, вологість <30%, стерильний бокс із НЕРА-фільтрами. Зберігання: У холодильниках при -20°C, термін придатності 24 міс.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		46

3.3.2 Додаткові технологічні рішення при реалізації технології виробництва бактеріальної закваски

З огляду на важкий сучасний стан економіки та необхідність значних капіталовкладень при організації біотехнології виробництва закваски бактеріальної на вітчизняному підприємстві доцільним є розглянути додаткові рішення спрямовані на зниження капіталовкладень, оптимізацію витрат і підвищення прибутковості.

1. Модульна адаптація обладнання для виробництва різних видів заквасок. Опис рішення: Завдяки окремому вирощуванню штамів (*L. lactis subsp. cremoris*, *subsp. lactis*, *S. thermophilus*, *L. helveticus*) на обладнанні Solaris Biotech (JUPITER, GENESIS, M-Series, I-Series), підприємство може легко адаптувати технологію для виробництва інших комбінацій заквасок. Наприклад, можна створювати закваски для йогуртів (збільшення частки *S. thermophilus* і додавання *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*), сиру (з акцентом на *L. helveticus*) або кефіру (додавання *Lactobacillus kefiranofaciens*). Для зниження витрат вітчизняні проєктувальні компанії, зокрема ENGNIUM GROUP, може розробити модульні оновлення програмного забезпечення LEONARDO 3.0 для швидкої зміни рецептур і умов вирощування, що зменшить потребу в переоснащенні.

Це рішення сприятиме збільшенню асортименту продукції без значних додаткових інвестицій у нове обладнання; можливість виходу на нові ринки (наприклад, дитяче харчування, пробіотики), що підвищить прибуток; гнучкість у відповідь на попит споживачів. Розширення продуктової лінійки дозволить залучити додаткових клієнтів і підвищити рентабельність існуючого обладнання.

2. Оптимізація інфраструктури з використанням енергоефективних рішень. Опис рішення: інжинірингове рішення з інтеграцією теплообмінників для утилізації тепла від стерилізації (121°C у реакторах із водяною сорочкою) та охолодження (з -40°C під час ліофілізації). Також передбачається

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		47

встановлення систем рекуперації води з промивних циклів СІР. Інвестиції в теплообмінники (орієнтовна вартість 5–10% від вартості обладнання) окуповуються за 2–3 роки за рахунок економії енергії, для їх придбання можливе залучення грантів від ЄС на енергоефективність.

Це рішення сприятиме: зниженню енерговитрат на 15–20% завдяки повторному використанню тепла, що особливо вигідно в умовах високих тарифів на електроенергію в Україні; зменшенню об'ємів стічних вод (наприклад, 914,78 кг для мезофільних середовищ), що скорочує витрати на очисні споруди; зниження операційних витрат підвищить маржу прибутку, особливо при масштабуванні виробництва.

3. Локалізація поставок сировини та компонентів. Опис рішення: проведення аудиту постачальників і розробка проєктної документації для співпраці з українськими виробниками лактози, пептону, дріжджового екстракту та стабілізаторів. Наприклад, налагодження виробництва лактози з молочної сироватки від місцевих молокозаводів. Початкові капіталовкладення в локальні ланцюжки постачання (наприклад, обладнання для переробки сироватки) можуть бути частково компенсовані через державні програми підтримки агропромислового комплексу.

Це рішення сприятиме: зниженню логістичних витрат і викидів CO₂ від транспортування (до 30% економії порівняно з імпортом); підтримці місцевої економіки, що може забезпечити пільги чи субсидії від держави. Зменшення собівартості сировини підвищить конкурентоспроможність продукції на ринку.

4. Впровадження автоматизованих систем моніторингу та дистанційного управління. Опис рішення: ENGENIUM GROUP пропонує інтеграцію IoT-систем із обладнанням Solaris Biotech для реального часу моніторингу параметрів (температура, рН, кількість клітин) і дистанційного налаштування через хмарні платформи. Це включатиме оновлення LEONARDO 3.0 із функціями прогнозування поломок. Інвестиції в автоматизацію (10–15% від

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		48

вартості обладнання) окуповуються за 3–4 роки завдяки економії на персоналі та зниженню браку.

Це рішення сприятиме: зменшенню потреби в постійному контролі персоналу, що скорочує витрати на робочу силу; підвищенню точності процесу (наприклад, підтримка певної концентрації мікроорганізмів), що зменшує втрати біомаси. Зменшення операційних витрат і підвищення якості продукту сприятимуть збільшенню обсягів продажів.

5. Інтеграція мікрофільтрації для підвищення виходу біомаси. Опис рішення: Додаткове використання мембранної мікрофільтрації (наприклад, керамічні мембрани з порами 0,2 мкм) після центрифугування (180 л біомаси) для уловлювання залишкової біомаси з надосадової рідини (1029 л). Це дозволить повернути до 5–10% втраченої біомаси (4,5–9 л).

Встановлення мікрофільтраційної системи (10–12% від вартості обладнання) компенсується за 2–3 роки завдяки економії на утилізації та підвищеному виходу. Можливе фінансування через екологічні гранти. Додатковий об'єм продукції підвищить рентабельність без значного збільшення операційних витрат.

6. Використання сонячної енергії для підтримання температурних режимів. Опис рішення: Інтеграція сонячних колекторів для підігріву води до 40°C на етапі приготування середовищ (914,78 кг для мезофільних, 229,27 кг для термофільних) та підтримки температури в цеху (22–25°C). Енергія також може використовуватися для попереднього нагріву пари в сорочках реакторів. Початкові інвестиції в сонячні панелі (10–15% від капіталу) окуповуються за 4–5 років завдяки субсидіям від держави (програма "зелена енергетика") та зниженню тарифів.

Це рішення сприятиме: зниженню витрат на електроенергію на 15–25%, особливо влітку, коли сонячна активність висока в Україні, зменшенню вуглецевого сліду, що сприятиме екологічній сертифікації. Економія на енергії підвищить маржу, а екологічний статус дозволить встановити преміальну

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		49

ціну.

Ці рішення, розроблені разом із ENGENIUM GROUP, дозволяють вітчизняному підприємству, на якому буде реалізовуватись організація виробництва закваски, не лише знизити початкові капіталовкладення (через гранти, лізинг і локалізацію), але й значно збільшити прибуток за рахунок розширення асортименту, оптимізації витрат і виходу на міжнародні ринки. Особливо вигідним є використання існуючого обладнання для виробництва різних заквасок, що максимізує рентабельність інвестицій. Це дозволить вітчизняному підприємству оптимізувати виробничий процес, знизити капітальні та операційні витрати (через енергоефективність, рециркуляцію та субсидії) і значно збільшити прибуток (через розширення асортименту, експорт і підвищення продуктивності).

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
						50
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

3.4 Схеми виробництва

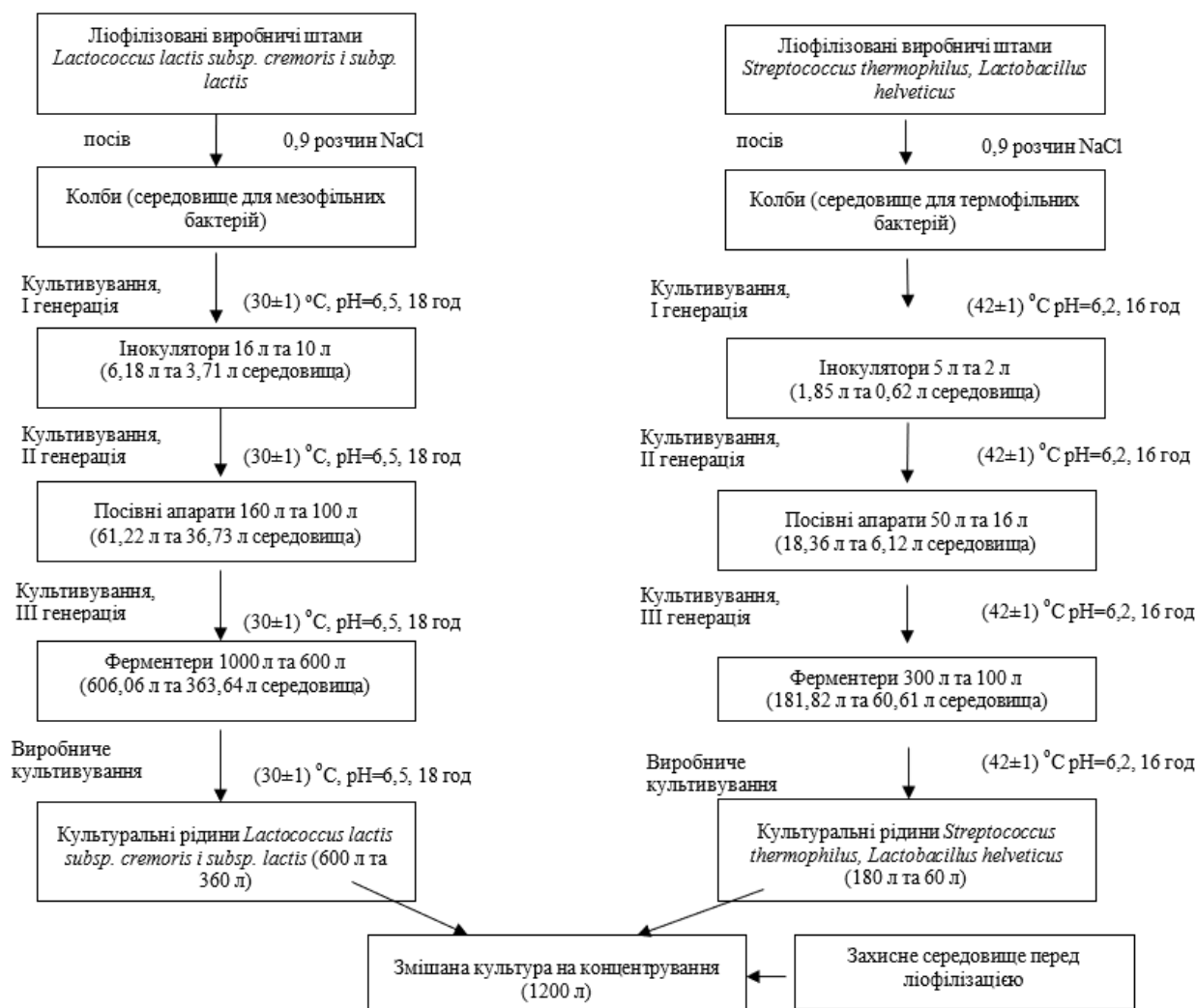


Рис. 3.1 – Біологічна схема виробництва закваски для твердих сирів

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

162.01.07.00 000 ПЗ

Арк.

51

Вихідна сировина,
проміжна продукція та
матеріали

Виготовлення бактеріальної закваски для
твердих сирів

Контроль у
процесі
виробництва

лактоза, пептон,
дріжджовий екстракт,
 KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$,
 $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, натрій
цитрат, аскорбінова
кислота, очищена вода

Стадія 1
Приготування живильного середовища
для мезофільних бактерій
Реактор, 1600 л

Кількість
компонентів,
температура та час
розчинення, рН,
температура, тиск,
час
автоклавування,
стерильність

лактоза, пептон, казеїн-
гідролізат, дріжджовий
екстракт, KH_2PO_4 ,
 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$,
 $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, NaHCO_3 ,
 CaCO_3 , вода очищена

Стадія 2
Приготування живильного для
термофільних бактерій
Реактор, 300 л

Кількість
компонентів,
температура та час
розчинення, рН,
температура, тиск,
час
автоклавування,
стерильність

Живильні середовища зі
стадії 1 або 2,
Lactococcus lactis subsp.
cremoris i subsp. lactis,
Streptococcus
thermophilus,
Lactobacillus helveticus

Стадія 3
Вирощування культур I генерації
Лабораторний посуд, термостат

Кількість
посівного
матеріалу та
фізрозчину, час,
рН, температура
вирощування

Живильні середовища зі
стадії 1 або 2, культури I
генерації *Lactococcus*
lactis subsp. cremoris i
subsp. lactis,
Streptococcus
thermophilus,
Lactobacillus helveticus

Стадія 4
Вирощування культур II генерації
Інокулятори, 16 л, 10 л, 5 л, 2 л

Кількість
посівного
матеріалу, час, рН,
температура
вирощування,
швидкість
перемішування

Живильні середовища зі
стадії 1 або 2, культури
II генерації *Lactococcus*
lactis subsp. cremoris i
subsp. lactis,
Streptococcus
thermophilus,
Lactobacillus helveticus

Стадія 5
Вирощування культур III генерації
Посівні апарати 160 л, 100 л, 50 л, 16 л

Кількість
посівного
матеріалу, час, рН,
температура
вирощування,
швидкість
перемішування

Живильні середовища зі
стадії 1 або 2, культури
III генерації *Lactococcus*
lactis subsp. cremoris i
subsp. lactis,
Streptococcus
thermophilus,
Lactobacillus helveticus

Стадія 6
Вирощування культур IV генерації
Ферментери 1000 л, 600 л, 300 л, 100 л

Кількість вологої
біомаси,
температура, тиск,
час, кількість
твердої та рідкої
фаз

культури IV генерації
Lactococcus lactis subsp.
cremoris i subsp. lactis,
Streptococcus
thermophilus,
Lactobacillus helveticus

Стадія 7
Змішування культур
Реактор 1500 л

Кількість культур,
температура, час
змішування,
швидкість
перемішування



Рис. 3.2 – Технологічна схема виробництва бактеріальної закваски для твердих сирів

3.5 Контроль виробництва

Для забезпечення якості виробництва бактеріальної закваски для твердих сирів на основі штамів *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus* необхідно проводити контроль на всіх критичних стадіях технологічного процесу [19]. Контрольні точки охоплюють підготовку виробництва, приготування живильних середовищ, вирощування культур (I–IV генерації), змішування, концентрацію, додавання захисного середовища, ліофілізацію, фасування та зберігання. Нижче наведено таблицю з контрольними точками, критичними параметрами, одиницями виміру та критеріями прийнятності.

Таблиця 3.1

Контроль критичних стадій і проміжної продукції

№	Критичні точки (стадії, операції)	Критичні параметри і характеристики якості	Одиниця виміру	Критерій прийнятності
1	Підготовка виробництва: стерилізація обладнання (інокулятори JUPITER, GENESIS)	Температура, тиск, час автоклавування	°C, бар, хв	121°C, 1,2 бар, 20 хв
2	Підготовка виробництва: стерилізація посівних апаратів (M-Series) і ферментерів (I-Series)	Температура, тиск, час SIP	°C, бар, хв	121°C, 1,2 бар, 30 хв
3	Підготовка виробництва: очищення збірників і трубопроводів (CIP)	Концентрація NaOH у розчині для CIP	%	2%
4	Підготовка	Температура і	°C,	22–25°C,

	виробництва: умови в цеху	вологість у цеху	%	50–60%
5	Стадія 1: Приготування живильного середовища для мезофільних бактерій	Температура нагрівання води	°C	40°C
6	Стадія 1: Приготування живильного середовища для мезофільних бактерій	Швидкість і тривалість перемішування	об/хв, хв	50 об/хв, 30 хв
7	Стадія 1: Стерилізація середовища для мезофільних бактерій	Температура, тиск, час автоклавування в реакторі	°C, бар, хв	121°C, 1,2 бар, 20 хв
8	Стадія 2: Стерилізація середовища для мезофільних бактерій	Стерильність	Наявність/відсутність росту	Відсутність росту мікроорганізмів (проба на агарі, 48 год, 30°C)
9	Стадія 1: Охолодження середовища для мезофільних бактерій	Температура після охолодження	°C	30°C
10	Стадія 2: Приготування живильного середовища для термофільних бактерій	Температура нагрівання води	°C	40°C
11	Стадія 2: Приготування живильного середовища для термофільних бактерій	Швидкість і тривалість перемішування	об/хв, хв	50 об/хв, 30 хв
12	Стадія 2: Стерилізація середовища для термофільних бактерій	Температура, тиск, час автоклавування в реакторі	°C, бар, хв	121°C, 1,2 бар, 20 хв
13	Стадія 2: Стерилізація середовища для	Стерильність	Наявність/відсутність росту	Відсутність росту мікроорганізмів

	термофільних бактерій			(проба на агарі, 48 годин, 42°C)
14	Стадія 2: Охолодження середовища для термофільних бактерій	Температура після охолодження	°C	30°C
15	Стадія 3: Вирощування культур I генерації (<i>L. lactis subsp. cremoris</i> , <i>subsp. lactis</i> , <i>S. thermophilus</i> , <i>L. helveticus</i>)	Чистота культур	Наявність/відсутність домішок	Відсутність сторонніх мікроорганізмів (мікроскопія, посів на селективний агар)
16	Стадія 3: Вирощування культур I генерації (<i>L. lactis subsp. cremoris</i> , <i>subsp. lactis</i>)	Температура, pH, тривалість	°C, pH, год	30°C, pH 6,5, 18 год
17	Стадія 3: Вирощування культур I генерації (<i>S. thermophilus</i> , <i>L. helveticus</i>)	Температура, pH, тривалість	°C, pH, год	42°C, pH 6,2, 16 год
18	Стадія 3: Вирощування культур I генерації (<i>L. lactis subsp. cremoris</i>)	Кількість клітин	КУО/мл	$\geq 10^7$ КУО/мл (метод серійних розведень, посів на MRS-агар)
19	Стадія 3: Вирощування культур I генерації (<i>L. lactis subsp. lactis</i>)	Кількість клітин	КУО/мл	$\geq 10^7$ КУО/мл (метод серійних розведень, посів на MRS-агар)
20	Стадія 3: Вирощування культур I генерації (<i>S. thermophilus</i>)	Кількість клітин	КУО/мл	$\geq 10^7$ КУО/мл (метод серійних розведень, посів на M17-агар)
21	Стадія 3: Вирощування культур I генерації (<i>L. helveticus</i>)	Кількість клітин	КУО/мл	$\geq 10^7$ КУО/мл (метод серійних розведень, посів на MRS-агар)
22	Стадія 4: Вирощування культур II генерації (мезофільні)	Температура, pH, обертання, тривалість	°C, pH, об/хв, год	30°C, pH 6,5, 50 об/хв, 18 годин
23	Стадія 4:	Температура, pH,	°C, pH, об/хв, год	42°C, pH 6,2, 50

	Вирощування культур II генерації (термофільні)	обертання, тривалість		об/хв, 16 годин
24	Стадія 4: Посів II генерації	Об'єм посівного матеріалу	%	1% від об'єму середовища
25	Стадія 4: Вирощування культур II генерації (<i>L. lactis subsp. cremoris</i>)	Кількість клітин	КУО/мл	$\geq 10^8$ КУО/мл (метод серійних розведень, посів на MRS-агар)
26	Стадія 4: Вирощування культур II генерації (<i>L. lactis subsp. lactis</i>)	Кількість клітин	КУО/мл	$\geq 10^8$ КУО/мл (метод серійних розведень, посів на MRS-агар)
27	Стадія 4: Вирощування культур II генерації (<i>S. thermophilus</i>)	Кількість клітин	КУО/мл	$\geq 10^8$ КУО/мл (метод серійних розведень, посів на M17-агар)
28	Стадія 4: Вирощування культур II генерації (<i>L. helveticus</i>)	Кількість клітин	КУО/мл	$\geq 10^8$ КУО/мл (метод серійних розведень, посів на MRS-агар)
29	Стадія 5: Вирощування культур III генерації (мезофільні)	Температура, рН, обертання, тривалість	°С, рН, об/хв, год	30°С, рН 6,5, 50 об/хв, 18 годин
30	Стадія 5: Вирощування культур III генерації (термофільні)	Температура, рН, обертання, тривалість	°С, рН, об/хв, год	42°С, рН 6,2, 50 об/хв, 16 годин
31	Стадія 5: Посів III генерації	Об'єм посівного матеріалу	%	10% від об'єму середовища
32	Стадія 5: Вирощування культур III генерації (<i>L. lactis subsp. cremoris</i>)	Кількість клітин	КУО/мл	$\geq 10^9$ КУО/мл (метод серійних розведень, посів на MRS-агар)
33	Стадія 5: Вирощування культур III генерації (<i>L. lactis subsp. lactis</i>)	Кількість клітин	КУО/мл	$\geq 10^9$ КУО/мл (метод серійних розведень, посів на MRS-агар)
34	Стадія 5: Вирощування культур III генерації (<i>S. thermophilus</i>)	Кількість клітин	КУО/мл	$\geq 10^9$ КУО/мл (метод серійних розведень, посів на M17-агар)
35	Стадія 5: Вирощування	Кількість клітин	КУО/мл	$\geq 10^9$ КУО/мл (метод серійних

	культур III генерації (<i>L. helveticus</i>)			розведень, посів на MRS-агар)
36	Стадія 6: Вирощування культур IV генерації (мезофільні)	Температура, рН, обертання, тривалість	°С, рН, об/хв, год	30°С, рН 6,5, 50 об/хв, 18 годин
37	Стадія 6: Вирощування культур IV генерації (термофільні)	Температура, рН, обертання, тривалість	°С, рН, об/хв, год	42°С, рН 6,2, 50 об/хв, 16 годин
38	Стадія 6: Посів IV генерації	Об'єм посівного матеріалу	%	10% від об'єму середовища
39	Стадія 6: Вирощування культур IV генерації (<i>L. lactis subsp.</i> <i>cremoris</i>)	Кількість клітин	КУО/мл	$\geq 10^{10}$ КУО/мл (метод серійних розведень, посів на MRS-агар)
40	Стадія 6: Вирощування культур IV генерації (<i>L. lactis subsp.</i> <i>lactis</i>)	Кількість клітин	КУО/мл	$\geq 10^{10}$ КУО/мл (метод серійних розведень, посів на MRS-агар)
41	Стадія 6: Вирощування культур IV генерації (<i>S. thermophilus</i>)	Кількість клітин	КУО/мл	$\geq 10^{10}$ КУО/мл (метод серійних розведень, посів на M17-агар)
42	Стадія 6: Вирощування культур IV генерації (<i>L. helveticus</i>)	Кількість клітин	КУО/мл	$\geq 10^{10}$ КУО/мл (метод серійних розведень, посів на MRS-агар)
43	Стадія 7: Змішування культур	Співвідношення штамів	%	50% (<i>L. lactis</i> <i>subsp. cremoris</i>), 30% (<i>L. lactis</i> <i>subsp. lactis</i>), 15% (<i>S.</i> <i>thermophilus</i>), 5% (<i>L. helveticus</i>)
44	Стадія 7: Змішування культур	Швидкість перемішування, температура, тривалість	об/хв, °С, год	30 об/хв, 25°С, 1 година
45	Стадія 8: Концентрація центрифугуванням	Параметри центрифугування	g, °С, год	5000 g, 4°С, 2 години
46	Стадія 8: Концентрація центрифугуванням	Вихід біомаси	л	180 л (15%)
47	Стадія 9: Додавання захисного	Співвідношення захисного	співвідношення	1:1

	середовища	середовища до біомаси		
48	Стадія 9: Додавання захисного середовища	Швидкість перемішування, температура, тривалість	об/хв, °C, хв	30 об/хв, 4°C, 30 хвилин
49	Стадія 10: Ліофілізація концентрату біомаси	Температура заморожування	°C	-40°C
50	Стадія 10: Ліофілізація концентрату біомаси	Параметри первинної сушки	°C, мбар, год	-30°C, 0,1 мбар, 48 годин
51	Стадія 10: Ліофілізація концентрату біомаси	Параметри вторинної сушки	°C, год	20°C, 12 годин
52	Стадія 10: Ліофілізація концентрату біомаси	Залишкова вологість	%	2%
53	Стадія 10: Ліофілізація концентрату біомаси	Кінцева маса продукту	кг	23,20 кг
54	Стадія 11: Фасування та пакування закваски	Маса одного пакета	кг	0,5 кг
55	Стадія 11: Фасування та пакування закваски	Умови фасування	°C, %	4°C, вологість <30%
56	Стадія 11: Зберігання закваски	Температура зберігання	°C	-20°C
57	Стадія 11: Зберігання закваски	Термін придатності	місяці	24 місяць

Контрольні точки охоплюють усі критичні стадії процесу, від підготовки до зберігання, враховуючи специфіку обладнання Solaris Biotech (JUPITER, GENESIS, M-Series, I-Series) та попередні розрахунки.

Критерії прийнятності базуються на технологічних параметрах, зазначених у описі процесу, матеріальному балансі та підборі обладнання.

Контроль pH і температури під час вирощування культур проводиться автоматично через програмне забезпечення LEONARDO 3.0, вбудоване в

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		60

обладнання Solaris Biotech.

Стерильність середовища: Перевіряється шляхом посіву проби середовища на живильний агар після стерилізації. Відсутність росту мікроорганізмів протягом 48 годин при відповідній температурі (30°C для мезофільних, 42°C для термофільних) підтверджує стерильність.

Чистота культур: Контроль проводиться мікроскопією (для перевірки морфології клітин) та посівом на селективні середовища (MRS-агар для *Lactococcus* і *L. helveticus*, M17-агар для *S. thermophilus*), щоб виключити контамінацію сторонніми мікроорганізмами.

Кількість клітин: Вимірюється методом серійних розведень із посівом на відповідний агар.

3.6 Екологічні аспекти виробництва

Виробництво бактеріальної закваски (*Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus*) на вітчизняному підприємстві має як позитивні, так і потенційно негативні екологічні аспекти.

Розглянемо позитивні екологічні аспекти на вітчизняному підприємстві при впровадженні цієї технології:

1. Ефективне використання ресурсів. Використання закритого циклу обладнання (Solaris Biotech JUPITER, GENESIS, M-Series, I-Series) з системами SIP/CIP дозволяє мінімізувати витрати води та хімікатів (наприклад, 2% розчин NaOH для CIP) завдяки повторному використанню промивних розчинів після нейтралізації. Точне дозування компонентів живильного середовища (лактоза, пептон, дріжджовий екстракт тощо) через насоси Watson-Marlow зменшує відходи сировини.

2. Можливість переробки відходів. Надосадова рідина (1029 л після центрифугування) може бути використана як джерело органічних речовин для

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		61

біогазових установок або як добриво після відповідної обробки, що зменшує навантаження на очисні споруди. Відходи ліюфілізації (1,20 кг) є органічними та можуть бути компостовані або перероблені.

3. Енергоефективність. Стерилізація в реакторах із водяною сорочкою шляхом подачі пари та охолодження через циркуляцію води оптимізує теплові витрати, зменшуючи споживання енергії порівняно з традиційним автоклавуванням. Використання НЕРА-фільтрів для стерильного повітря сприяє локалізованому очищенню, а не загальному кондиціонуванню цеху, що знижує енергоспоживання.

4. Низький рівень викидів. Процес вирощування культур без аерації зменшує викиди CO₂, пов'язані з компресорами повітря. Закритий цикл виробництва з мінімальними відкритими операціями знижує ризик викидів летких органічних сполук (ЛОС).

Розглянемо потенційні екологічні ризики при організації запропонованої технології та заходи їх мінімізації:

1. Споживання енергії. Ліюфілізація (48 годин при -30°C і 12 годин при 20°C) та стерилізація (121°C) є енергоємними етапами. На вітчизняних підприємствах, де частка викопного палива в енергомережі висока (вугілля, газ), це може спричинити значні викиди CO₂.

Можливі заходи їх мінімізації: Перехід на відновлювані джерела енергії (сонячні панелі, біогаз із відходів) або використання теплообмінників для утилізації тепла від охолодження реакторів.

2. Утилізація води. Під час СІР і промивки обладнання утворюється стічна вода з залишками NaOH та органічних речовин (914,78 кг води для мезофільних, 229,27 кг для термофільних середовищ).

Можливі заходи їх мінімізації: Встановлення локальних очисних споруд із нейтралізацією рН і біологічною очисткою, повторне використання води після фільтрації.

3. Управління відходами. Неперероблені органічні відходи (наприклад,

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
						62
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

9 л втраченої біомаси) можуть спричинити забруднення ґрунтів або водойм, якщо не утилізуються належним чином.

Можливі заходи їх мінімізації: Організація централізованого збору та передачі відходів на біогазові або компостні підприємства, контроль за дотриманням санітарних норм.

4. Транспорт і логістика. Доставка сировини (лактоза, пептон, казеїн-гідролізат тощо) на підприємство може призводити до викидів CO₂ від вантажівок, особливо якщо постачальники розташовані далеко.

Можливі заходи їх мінімізації: Співпраця з місцевими постачальниками або використання електрифікованого транспорту.

У аспекті оцінки екологічних викликів слід розглянути сучасний стан галузі на вітчизняному рівні, що додатково створює певні екологічні ризики:

1. Інфраструктура. Багато українських підприємств можуть мати застарілу систему водопостачання та утилізації відходів, що ускладнює впровадження екологічних технологій. Наприклад, доступ до сучасних біогазових установок обмежений.

2. Законодавство. Відсутність суворих екологічних стандартів для біотехнологічного виробництва може призводити до недостатнього контролю за викидами та відходами.

3. Енергетична залежність. Використання електроенергії з невідновлюваних джерел (станом на 2025 рік частка ВДЕ в Україні ~15–20%) підвищує вуглецевий слід.

Серед рекомендацій для покращення екологічності вітчизняного підприємства слід виділити наступні:

1. Впровадження зелених технологій, наприклад, за рахунок установки сонячних панелей для забезпечення енергії на етапі ліофілізації та стерилізації та використання теплообмінників для рекуперації тепла від парових систем.

2. Оптимізація водокористування, зокрема за рахунок встановлення систем зворотного осмосу для повторного використання промивної води та

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		63

моніторингу об'ємів стічних вод із сенсорами рН і органічного навантаження.

3. Екологічна сертифікація - отримання сертифікатів ISO 14001 для підтвердження екологічного менеджменту, що стимулюватиме інвестування в зелені технології.

4. Освіта персоналу - проведення тренінгів щодо раціонального використання ресурсів і правильної утилізації відходів.

Таким чином, виробництво закваски на вітчизняному підприємстві має потенціал бути екологічно стійким завдяки закритому циклу обладнання та можливості переробки відходів. Однак ключовими викликами є енергоємність, управління водними ресурсами та логістика. Впровадження відновлюваної енергетики, локальних очисних систем і співпраці з місцевими постачальниками може суттєво знизити екологічний слід.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
						64
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

ВИСНОВОК

У рамках роботи розроблено та обґрунтовано технологічний процес виробництва бактеріальних заквасок для твердих сирів із використанням штамів *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Streptococcus thermophilus* та *Lactobacillus helveticus*, адаптований до умов вітчизняних молочних підприємств.

На основі аналізу сучасних наукових і нормативних джерел визначено біотехнологічні особливості заквасок, їх склад і умови культивування, що відповідають вимогам до виробництва твердих сирів. Як біооб'єкти обрано штами *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Streptococcus thermophilus* та *Lactobacillus helveticus*, чий фізіолого-біохімічний профіль забезпечує ефективне молочнокисле бродіння. Вибір технологічного підходу включав етапи культивування (I–IV генерації), ферментації, концентрації центрифугуванням (171 л біомаси), стабілізації з захисним середовищем і ліофілізацію (23,20 кг кінцевого продукту), що обґрунтовано високою концентрацією клітин і стабільністю закваски.

Підбір і розрахунок технологічного обладнання виконано з використанням Solaris Biotech та насосів Watson-Marlow, що відповідають об'ємам від 2 л до 1000 л і забезпечують стерильність через SIP/CIP. Біологічна, технологічна та апаратурна схеми розроблено з урахуванням послідовності процесів і умов, відображених у детальному описі етапів. Точки контролю якості визначено для кожного етапу, із заходами моніторингу, що гарантує високу якість продукту.

Екологічні аспекти виробництва проаналізовано, виокремлено позитивні сторони та ризики. Запропоновано рішення, такі як теплообмінники та біогазові установки, для зменшення впливу на довкілля. Додаткові технологічні рішення сприяють зниженню витрат (економія 15–25% на енергії, повернення 5–10% біомаси) і збільшенню прибутку.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		65

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Безпека продовольчої сировини і харчових продуктів : навч. посіб.–практ. / В. В. Євлаш та ін. Харків : Світ книг, 2021. 131 с.
2. Висоцька І. Безпечність продукції на первинному виробництві молока: від контролю показників до контролю процесів. *Управління якістю*. 2019. № 12. С. 60–70.
3. Висоцька І. Нові вимоги до безпечності та якості молока. *Мир продуктів*. 2019. № 6. С. 33–35.
4. Гармашева І. Л., Коваленко Н. К., Олещенко Л. Т. Біологічні властивості ентерококів і лактококів, ізольованих з традиційних кисломолочних продуктів України. *Мікробіологічний журнал*. 2020. Т. 82, № 1. С. 22–32.
5. ДСТУ 3662-97. Молоко коров'яче незбиране. Вимоги при закупівлі. Київ : Держстандарт України, 1997. URL: https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=67267 (дата звернення: 02.04.2025).
6. ДСП 4.4.4-011-98. Державні санітарні правила для молокопереробних підприємств. URL: <https://ips.ligazakon.net/document/MOZ15540> (дата звернення: 02.04.2025).
7. Закваски і їх види у сировиробництві / В. В. Власенко та ін. *Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького*. 2016. Т 18, № 2(68). С. 157-160. DOI: 10.15421/nvlvet6833
8. Іваненко Ф. В., Соколовський А. Т. Технологія переробки сільськогосподарської продукції : міжпредметний тренінг для студентів спеціалізації «Економіка агропромислових формувань». Київ : КНЕУ, 2014. 268 с.
9. Інноваційне обладнання молокопереробних підприємств : підручник / І. Г. Бабанов та ін. Київ : ІНКООС, 2019. 718 с.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		66

10. Красінко В. О. Методи контролю біотехнологічних, фармацевтичних і харчових виробництв : конспект лекцій. Київ : НУХТ, 2019. 252 с.

11. Кухтин М. Мікробіологія молочних продуктів вироблених з молока коров'ячого сирого : монографія. Кам'янець-Подільський : ЗВО ПДУ, 2023. 150 с.

12. Машкін М. І., Париш Н. М. Технологія молока і молочних продуктів : навч. вид. Київ : Вища освіта, 2006. 351 с.

13. Мікробіологія молока і молочних продуктів : навч. посіб. для студентів вищ. навч. закл. I-II рівнів акредитації зі спец. 5.05170111 "Зберігання, консервування та переробка молока"/ уклад.: А. А. Старовойтова. Біла Церква, 2017. 153 с.

14. Мікробіологія молока і молочних продуктів з основами ветеринарно-санітарної експертизи : навч. посіб. для підготовки фахівців у ВНЗІІІ-IV рівнів акредитації за напрямками підготовки «Харчові технології та інженерія» і «Ветеринарна медицина» / О. М. Бергілевич та ін. Суми : Унів. кн., 2010. 320 с.

15. Мясоєдов О. Підвищення економічної ефективності очищення стічних вод молокопереробних підприємств: сучасний погляд на проблему. *Екологія підприємства*. 2020. № 10. С. 56–60.

16. Пирог Т. П. Загальна мікробіологія : підручник. 2–ге вид., допов. і перероб. Київ : НУХТ, 2010. 632 с.

17. Система аналізу ризиків і критичних контрольних точок ХАССП : рек. для молокозаводів зі зразками програм ХАССП для молочних продуктів. Київ : Міжнародна асоціація виробників молочної продукції, 2009. 306 с.

18. Сухенко Ю. Г., Сарана В. В., Сухенко В. Ю. Технологічне обладнання та лінії молокопереробних підприємств : навч. посіб. для підгот. студентів у ВНЗ / за ред. д-ра техн. наук, проф. Ю. Г. Сухенка ; Нац. ун-т біоресурсів і природокористування України. Київ : Компрінт, 2013. 658 с.

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		67

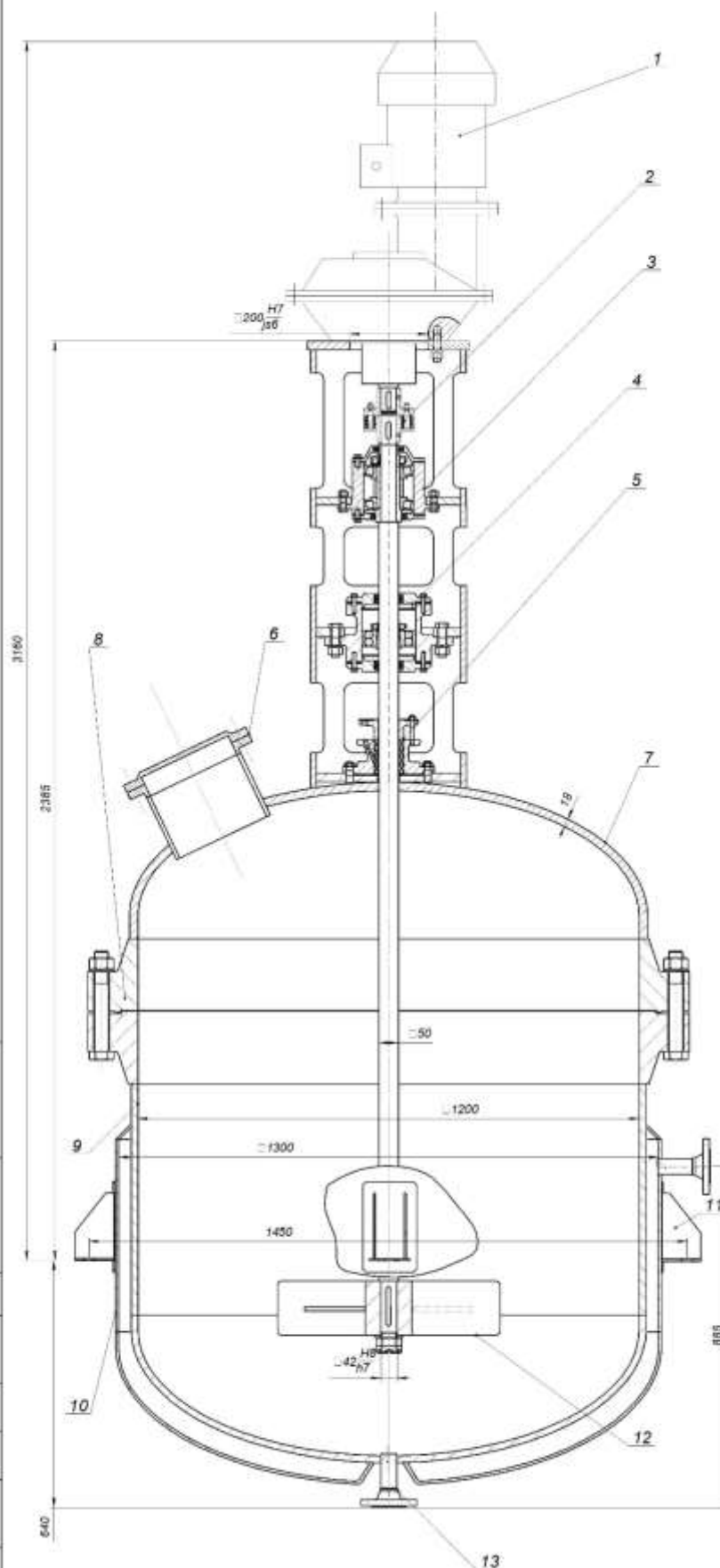
19. Технологія молока та молочних продуктів з елементами HACCP : підручник / М. П. Головка та ін. Харків : Світ книги, 2021. 293 с.
20. Angelis M., Gobbetti M. *Lactobacillus* SPP.: General Characteristics. *Reference Module in Food Science*. 2016. DOI: 10.1016/B978-0-08-100596-5.00851-9
21. Bintsis T., Papademas P. The Application of Protective Cultures in Cheese: A Review. *Fermentation* 2024. Vol. 10(3). P. 117. DOI: 10.3390/fermentation10030117
22. Characterization, High-Density Fermentation, and the Production of a Directed Vat Set Starter of *Lactobacilli* Used in the Food Industry: A Review / Y. Lu et al. *Foods*. 2022. Vol. 11(19). P. 3063. DOI: 10.3390/foods11193063
23. Coelho M. C., Malcata F. X., Silva C. C. G. Lactic Acid Bacteria in Raw-Milk Cheeses: From Starter Cultures to Probiotic Functions. *Foods*. 2022. Vol. 11(15). P. 2276. DOI: 10.3390/foods11152276
24. Genome Analysis and Physiological Characterization of Four *Streptococcus thermophilus* Strains Isolated From Chinese Traditional Fermented / Tong Hu et al. *Front. Microbiol.* 2020. Vol. 11. P. 184. DOI: 10.3389/fmicb.2020.00184
25. Johnson M. E. Mesophilic and Thermophilic Cultures Used in Traditional Cheesemaking. *Microbiol Spectr.* 2013. Vol. 1(1). DOI: 10.1128/microbiolspec.cm-0004-2012
26. Kongo J. M. Lactic Acid Bacteria as Starter-Cultures for Cheese Processing: Past, Present and Future Developments. 2013. 21 p. DOI: 10.5772/55937
27. Wilkinson Martin G., LaPointe G. Starter lactic acid bacteria survival in cheese: New perspectives on cheese microbiology. *Journal of Dairy Science*. 2020. Vol. 103(12). P. 10963-10985. DOI: 10.3168/jds.2020-18960

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		68

28. Zheng X., Shi X., Bin W. A Review on the General Cheese Processing Technology, Flavor Biochemical Pathways and the Influence of Yeasts in Cheese. *Front. Microbiol.* 2021. Vol. 12. P. 703284. DOI: 10.3389/fmicb.2021.703284

					162.01.07.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		69

ДОДАТКИ



Примі: на діловому візві має з'явитися привітальне в ділі, з вертикальними лініями - рефлексором.

ТЕХНИКА ЗАПЯТЫХОВАНИЯ

ОП в. и. м.б.	1.0
Топ в. и. м.б.	2.4
Топ в. и. м.б.	0.8
Настоящее издание, общ.	24-110
Получено, изд. м.б.	2.6

Перелік складових частин апарату

Лаз	Позначення	Найменування	Кіл	Примітки
1		Мотор-редуктор	1	
2		Стійка привою	1	
3		З'єднувальна муфта	1	
4		Опорно-упорний підшипник	1	
5		Редукційний підшипник	1	
6		Лопі	1	
7		Кришка корпусу апарата	1	
8		Фланець	1	
9		Обв'язка корпусу апарата	1	
10		Сорочка	1	
11		Опорні лопі	1	
12		Мішалка	1	
13		Штуцер виводу продукту	1	