

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
Факультет агротехнологій та природокористування
Кафедра біотехнології та хімії

До захисту допускається

Завідувач кафедри

Владислав КОВАЛЕНКО

" ____ " _____ р.

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

за другим (магістерським) рівнем вищої освіти

на тему: «Технологія отримання бактеріального концентрату для закваски кефіру»

Виконав (-ла):

Володимир ДУБОВИК

Ім'я ПРІЗВИЩЕ

Група:

ЗБІО 2401М

Науковий керівник

Владислав КОВАЛЕНКО

Ім'я ПРІЗВИЩЕ

Рецензент

Вікторія СКЛЯР

Ім'я ПРІЗВИЩЕ

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет агротехнологій та природокористування

Кафедра біотехнології та хімії

Ступень вищої освіти – магістр

Спеціальність – 162 «Біотехнології та біоінженерія»

ЗАТВЕРДЖУЮ:

Завідувач кафедри

Владислав КОВАЛЕНКО

« _____ » _____ 202_ р.

ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ
Володимиру ДУБОВИКУ

Тема роботи: **Технологія отримання бактеріального концентрату для закваски кефіру**

1. Керівник кваліфікаційної роботи **Владислав КОВАЛЕНКО, к. с.-г. н., доцент, завідувач кафедри біотехнології та хімії**
2. Строк подання здобувачем закінченої роботи 1 грудня 2025 року
3. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи – _____

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які необхідно опрацювати) _____

5. Перелік графічного матеріалу (з точною вказівкою обов'язкових креслень) _____

Керівник кваліфікаційної роботи _____ / Владислав КОВАЛЕНКО _____
підпис *Ім'я, ПРИЗВИЩЕ*

Завдання прийняв до виконання _____ / Володимир ДУБОВИК _____
підпис *Ім'я, ПРИЗВИЩЕ*

Дата отримання завдання « _____ » _____ 20_ р.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ п/п	Назви етапів кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітки
1.	Вибір теми і об'єкта досліджень	1-й семестр	
2.	Розробка завдання до кваліфікаційної роботи; складання календарного плану; формування змісту розрахунково-пояснювальної записки (формування переліку питань, які необхідно опрацювати в роботі). Підбір методик для проведення досліджень	1-й семестр	
3.	Виконання кваліфікаційної роботи	3-й семестр	
3.1.	Підбір та аналіз літературних джерел з теми кваліфікаційної роботи	1-й семестр	
3.2.	Збір вихідних даних (проведення польових досліджень) для написання експериментальної частини кваліфікаційної роботи	2-й семестр	
3.3.	Підготовка загального варіанту кваліфікаційної роботи (розділ 1-3, висновки)	3-й семестр	
3.4.	Апробація результатів дослідження	3-й семестр	
4.	Перевірка роботи науковим керівником і допуск до попереднього захисту	3-й семестр	
5.	Перевірка кваліфікаційної роботи на унікальність	За 30 днів до захисту	
6.	Рецензування	За 15 днів до захисту	
7.	Попередній захист кваліфікаційної роботи	За 10 днів до захисту	
8.	Прилюдний захист кваліфікаційної роботи перед екзаменаційною комісією	Відповідно наказу ректора	

Керівник кваліфікаційної роботи _____ / Владислав КОВАЛЕНКО

підпис

Ім'я, ПРІЗВИЩЕ

Здобувач

_____ / Володимир ДУБОВИК

підпис

Ім'я, ПРІЗВИЩЕ

АНОТАЦІЯ

Дубовик Володимир Іванович

«Технологія отримання бактеріального концентрату для закваски кефіру»

Кваліфікаційна робота на здобуття ступеня магістра за освітньою програмою Біотехнології та біоінженерія зі спеціальності 162 Біотехнології та біоінженерія Сумський національний аграрний університет, Суми, 2025.

Метою кваліфікаційної роботи є систематизація наукових та практичних відомостей, що сприяють оптимізації технологічного процесу виготовлення бактеріального концентрату кефірної закваски.

Опрацьована нормативно-технічна документація щодо вимог до сировини, допоміжних матеріалів, повітря, води, готової продукції та технологічних приміщень для виробництва бактеріального концентрату закваски кефіру. Обґрунтовано шляхи удосконалення технологічного процесу виробництва бактеріального концентрату та проаналізовано нинішній стан ринку заквасок і визначено основні тенденції його розвитку. Надана характеристика кінцевої продукції та охарактеризовані біологічні агенти, що входять до її складу.

Дослідження виконане на виробничій базі ДП «Аромат» Сумського молокозаводу, а отримані результати можуть бути застосовані з метою удосконалення технологічного процесу виготовлення бактеріальних концентратів заквасок та впроваджені у практику харчової промисловості.

За удосконалення виробництва використовують такі мікроорганізми-продуценти: кефірні грибки К-11, В-7292, В-7295, В-7296, і дріжджі У-5040 із сумарним виходом біомаси 7,75 г/л. Враховуючи фізіолого-біохімічні та культуральні властивості цих мікроорганізмів, встановлено оптимальні параметри процесу: температура культивування 33 ± 1 °С, рН $6,7\pm 0,1$, надлишковий тиск $0,04\pm 0,01$ МПа, швидкість перемішування 50–70 об/хв.

Ключові слова: кефірні грибки, бактеріальний концентрат, закваска, технологічний процес, дріжджі, бактерії, кефір.

ABSTRACT

Dubovyk Volodymyr Ivanovych

"Technology for obtaining bacterial concentrate for kefir starter"

Qualification work for obtaining a master's degree in the educational program Biotechnology and Bioengineering in specialty 162 Biotechnology and Bioengineering Sumy National Agrarian University, Sumy, 2025.

The purpose of the qualification work is to systematize scientific and practical information that contributes to the optimization of the technological process of manufacturing kefir starter bacterial concentrate.

The normative and technical documentation on the requirements for raw materials, auxiliary materials, air, water, finished products and technological premises for the production of bacterial concentrate of kefir starter has been developed. Ways of improving the technological process of bacterial concentrate production have been substantiated and the current state of the starter market has been analyzed and the main trends of its development have been identified. The characteristics of the final product have been provided and the biological agents included in its composition have been characterized.

The research was carried out at the production base of the Aromat SE of the Sumy Dairy Plant, and the results obtained can be used to improve the technological process of manufacturing bacterial starter concentrates and implemented in the practice of the food industry.

To improve production, the following microorganisms-producers are used: kefir fungi K-11, B-7292, B-7295, B-7296, and yeast U-5040 with a total biomass yield of 7.75 g/l. Taking into account the physiological, biochemical and cultural properties of these microorganisms, the optimal process parameters were established: cultivation temperature $33\pm 1^{\circ}\text{C}$, pH 6.7 ± 0.1 , excess pressure 0.04 ± 0.01 MPa, mixing speed 50–70 rpm.

Keywords: kefir fungi, bacterial concentrate, starter, technological process, yeast, bacteria, kefir.

ЗМІСТ

ВСТУП	7
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ ТА АНАЛІЗ СУЧАСНОГО СТАНУ ТЕХНОЛОГІЇ ЗАКВАСОК	10
1.1. Кефір як функціональний харчовий продукт	10
1.2. Нормативно-технічна документація на сировину, проміжні продукти та на готову продукцію	13
РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	17
2.1. Обґрунтування вибору об'єкту дослідження	17
2.2. Технологія виробництва бактеріальної закваски для кефіру	19
РОЗДІЛ 3. ВИРОБНИЦТВО КЕФІРНОЇ ЗАКВАСКИ	24
3.1. Процес отримання закваски	24
3.2. Характеристика закваски та основних етапів її виготовлення	26
3.3. Біологічні процеси, що відбуваються під час ферментації	27
3.4. Технологія приготування закваски	31
3.5. Особливості кефірних грибків	34
ВИСНОВКИ ТА ПРОПОЗИЦІЇ	39
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	41
ДОДАТКИ	46

ВСТУП

Актуальність роботи. Відповідно до статистичних звітів ВООЗ і ФАО, серед найсуттєвіших ризиків виникнення хронічних неінфекційних патологій виділяють надмірну масу тіла та ожиріння, відповідальними за приблизно 3,4 мільйона смертей щороку. У зв'язку з цим рекомендується зменшувати калорійність харчування та споживати продукти з мінімальним вмістом цукрів і жирів, зокрема кисломолочні. Крім того, близько 44 % випадків діабету, від 7 до 41 % окремих онкологічних захворювань і 23 % випадків ішемічної хвороби серця зумовлені надлишковою вагою [1].

Одним із ключових чинників розвитку ожиріння є порушення балансу харчування. Тому ВООЗ рекомендує зменшувати енергетичну цінність добового раціону, обмежуючи вживання жирів і цукрів [2].

У цьому контексті особливу увагу привертають кисломолочні продукти, які характеризуються низьким вмістом вуглеводів і жирів та відіграють важливу роль у формуванні здорового харчування. Найбільшу користь мають натуральні продукти, виготовлені без додавання цукру, із використанням спеціально підібраних заквасок — мікробіологічних культур, здатних ініціювати процес ферментації та формувати необхідні властивості кінцевого продукту.

Попри тривалу історію розвитку технологій ферментації, галузь виробництва заквасок залишається однією з найбільш інноваційних у харчовій промисловості. Станом на 2022 рік світовий ринок заквасок оцінювався приблизно у 1,1 млрд доларів США, а прогнозоване зростання до 2027 року становитиме до 1,5 млрд доларів США. Найбільшу частку на цьому ринку посідають багатощамові ліофілізовані культури, отримані методом сублімаційного сушіння [3].

Серед різноманіття кисломолочних продуктів особливе місце посідає кефір, який характеризується високою поживною цінністю та наявністю мікрофлори з вираженими антагоністичними властивостями щодо

патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів. В Україні його потенційними споживачами є 5–6 мільйонів людей, у тому числі близько 16 % населення, що страждає на гіполактазію, оскільки під час ферментації більша частина лактози перетворюється на молочну кислоту [4].

Отже, актуальність дослідження полягає у необхідності вдосконалення технології виробництва концентрату бактеріальної закваски для кефіру, що забезпечить підвищення ефективності процесу, розширення можливостей автоматизації, зменшення трудомісткості операцій та мінімізацію ризику мікробного забруднення кінцевої продукції.

Метою дослідження є систематизація наукових та практичних відомостей, що сприяють оптимізації технологічного процесу виготовлення бактеріального концентрату кефірної закваски.

Для досягнення визначеної мети заплановано виконання таких завдань:

1. Опрацювати нормативно-технічну документацію щодо вимог до сировини, допоміжних матеріалів, повітря, води, готової продукції та технологічних приміщень для виробництва бактеріального концентрату закваски кефіру.
2. Обґрунтувати шляхи удосконалення технологічного процесу виробництва бактеріального концентрату та проаналізувати нинішній стан ринку заквасок і визначити основні тенденції його розвитку.
3. Надати характеристику кінцевої продукції та охарактеризувати біологічні агенти, що входять до її складу.

Об'єктом дослідження є бактеріальний концентрат закваски для виробництва кефіру.

Методи дослідження. У роботі використано наступні емпіричні методи – експеримент, спостереження, вимірювання – а також теоретичних: аналіз, синтез, індукцію, дедукцію, абстрагування. Із загальнонаукових і спеціальних методів застосовано моделювання, порівняння та системний аналіз.

Практична значимість роботи. Дослідження виконане на виробничій

базі ДП «Аромат» Сумського молокозаводу, а отримані результати можуть бути застосовані з метою удосконалення технологічного процесу виготовлення бактеріальних концентратів заквасок та впроваджені у практику харчової промисловості.

Апробація роботи здійснена шляхом представлення основних положень у вигляді тез, опублікованих за результатами участі у Всеукраїнській науковій конференції студентів і аспірантів, що відбулася 17–25 листопада 2025 року.

Структура роботи включає три основні розділи, містить усі необхідні структурні елементи відповідно до методичних рекомендацій для спеціальності «Біотехнології та біоінженерія». Загальний обсяг становить 45 сторінок.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ ТА АНАЛІЗ СУЧАСНОГО СТАНУ ТЕХНОЛОГІЇ ЗАКВАСОК

1.1. Кефір як функціональний харчовий продукт

Кефір – це унікальний кисломолочний напій, історія якого налічує тисячі років. Його батьківщиною вважається Північний Кавказ (Осетія), де кефірні грибки («зерна пророка») передавалися з покоління в покоління як сімейна реліквія [1]. На відміну від більшості кисломолочних продуктів, які отримують шляхом чисто молочнокислого бродіння (йогурт, ряжанка), кефір є продуктом змішаного бродіння – молочнокислого та спиртового, що обумовлює його специфічний смак, аромат та газоутворення [2].

Біологічна цінність кефіру визначається вмістом легкозасвоюваних білків, пептидів, амінокислот, вітамінів та мінеральних речовин. У процесі ферментації відбуваються суттєві біохімічні трансформації компонентів молока, що підвищує їх біодоступність (табл. 1.1).

Сучасні дослідження підтверджують, що регулярне вживання кефіру сприяє нормалізації складу кишкової мікробіоти, пригніченню росту патогенних мікроорганізмів (*Salmonella*, *E. coli*) та стимуляції імунної системи [5]. Особливу роль відіграє екзополісахарид **кефіран**, який продукується лактобактеріями і має доведену протипухлинну та протизапальну дію [6].

Кефірні зерна являють собою стійкий симбіоз мікроорганізмів, укладених у полісахаридну матрицю (кефіран). Вони мають неправильну форму, нагадуючи суцвіття цвітної капусти, білий або жовтуватий колір та пружну консистенцію.

Мікрофлора кефіру є однією з найскладніших серед усіх ферментованих продуктів. Згідно зі стандартом Codex Alimentarius (CODEX STAN 243-2003), специфічна закваска для кефіру повинна містити широкий спектр мікроорганізмів [7].

Таблиця 1.1

Порівняльна характеристика хімічного складу молока та кефіру (на 100 г продукту) [3, 4]

Показник	Одиниці виміру	Молоко коров'яче (2,5%)	Кефір (2,5%)	Зміни при ферментації
Білки	г	2,9	2,9	Частковий гідроліз до пептидів
Жири	г	2,5	2,5	Ліполіз, утворення вільних жирних кислот
Вуглеводи (лактоза)	г	4,7	3,8–4,0	Зниження на 20-30% (гідроліз)
Молочна кислота	г	сліди	0,9–1,1	Утворення (консервант)
Кальцій	мг	120	120	Підвищення засвоюваності
Вітамін В12	мкг	0,4	0,4–0,6	Синтез мікрофлорою
Етиловий спирт	% об.	-	0,05–0,6	Продукт дріжджового бродіння

Співвідношення основних груп мікроорганізмів у кефірній заквасці [8]:
 Лактококи (*Lactococcus*) – 65%, Лактобацили (*Lactobacillus*): – 20%,
 Лейконостоки (*Leuconostoc*) – 10%, Дріжджі (*Saccharomyces*, *Candida*) – 4%,
 Оцтовокислі бактерії (*Acetobacter*) – 1%.

Домінуючими видами є: **Гомоферментативні:** *Lactobacillus kefiranofaciens*, *Lb. acidophilus*. **Гетероферментативні:** *Lb. brevis*, *Lb.*

fermentum. **Дріжджі:** *Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida kefir* (забезпечують спиртове бродіння та утворення CO₂).

Між бактеріями та дріжджами існує складний синергізм. Молочнокислі бактерії знижують рН середовища, створюючи сприятливі умови для дріжджів, а дріжджі, в свою чергу, синтезують вітаміни групи В та фактори росту, необхідні для бактерій [9].

У промисловості використовують кілька форм бактеріальних препаратів. Традиційне використання живих кефірних грибків є трудомістким та складним для стандартизації, тому сучасна індустрія переходить на **бактеріальні концентрати прямого внесення** [10].

Для отримання концентрату мікроорганізми культивують на оптимізованих поживних середовищах (наприклад, гідролізоване молоко з додаванням дріжджового екстракту та глюкози) при постійному контролі рН (рН-статкування) для нейтралізації кислоти, що дозволяє досягти високої щільності клітин [11].

Ключовим етапом є відділення клітин від культуральної рідини (центрифугування або бактофугування) та подальше консервування. Найбільш поширеним методом є **ліофілізація** (сублімаційне сушіння).

Для захисту клітин від пошкодження кристалами льоду та дегідратації використовують кріопротектори. Ефективність різних середовищ досліджено багатьма вченими.

Основні етапи отримання сухого бактеріального концентрату:

1. Підготовка посівного матеріалу (чисті культури).
2. Нарощування біомаси (ферментація).
3. Концентрування (відділення біомаси).
4. Змішування із захисним середовищем (сахароза, желатин, молоко).
5. Розлив у флакони/лотки та заморожування (−40...−45 °С).
6. Сублімація вологи у вакуумі.
7. Досушування та пакування.

Аналіз патентної бази показує, що основні зусилля дослідників спрямовані на підвищення виживаності мікроорганізмів під час сушіння. Зокрема, складність полягає у різній стійкості дріжджів та лактобактерій до ліофілізації, що може призвести до дисбалансу в кінцевому продукті [12].

Встановлено, що використання захисних середовищ на основі цитрату натрію та сахарози підвищує виживаність кефірної мікрофлори до 85-90% [13].

Незважаючи на значну кількість досліджень, проблема отримання стабільного сухого концентрату, який би повністю відтворював органолептику традиційного кефіру на грибках, залишається актуальною. Більшість промислових заквасок не містять повної мікробіоти (часто відсутні оцтовокислі бактерії або специфічні дріжджі), що робить тему цієї кваліфікаційної роботи науково та практично значущою.

1.2. Нормативно-технічна документація на сировину, проміжні продукти та на готову продукцію

Виготовлення сухих заквашувальних культур на ДП «Аромат» здійснюється відповідно до положень ТУ У 15.5-00419880-100:2010, що визначають вимоги до якості та безпеки заквасок у сухому та рідкому вигляді, включно з показниками активності мікроорганізмів, чистотою культури та технологічними характеристиками продукту, а також згідно із затвердженою на підприємстві технологічною інструкцією.

Закваска «Аромат-ЗК» являє собою бактеріальний концентрат, призначений для виготовлення кефіру. Використання цього концентрату дозволяє одержати продукт, Відповідає встановленим у ДСТУ 4417:2005 про технічні умови кефіру стандартам щодо показників якості [5].

Промислове впровадження цієї технології підтверджене науковими дослідженнями та захищене патентом України № 98914 С2 від 25.06.2012 р., що описує метод отримання бактеріального концентрату для прямого внесення, створеного на основі кефірних грибків. [6].

Санітарна підготовка виробничих приміщень, експлуатація обладнання та контроль якості повітря здійснюються відповідно до вимог ДСП 4.4.4-011-98, що регламентує санітарні правила для молокопереробних підприємств [7]. При визначенні ГДК шкід. реч. у повітрі робочої зони застосовуються положення Наказу МОЗ України № 30 від 23.02.2000 р., які встановлюють гігієнічні регламенти для шкід. реч. у повітрі виробничих приміщень та атмосфері населених пунктів [8].

Для забезпечення виробничих потреб використовується питна вода, яка повинна відповідати ДСТУ 7525:2014, що встановлює методи перевірки якості води та встановлені до неї вимоги, а також ДСанПіН 2.2.4-171-10, який регламентує гігієнічні стандарти питної води, придатної до вживання людиною.

Нормативні документи щодо сировини та допоміжних матеріалів

Сировина, допоміжні компоненти та проміжні продукти у виробництві заквасок мають відповідати вимогам чинних нормативних стандартів (додаток А)

Контроль мікробіологічних показників сировини та готового продукту виконують відповідно до нормативних вимог ДСТУ 7357:2013, що регламентує методи мікробіологічного контролю молока та молочних продуктів. Детальні методики контролю описано в розділі 3 роботи.

Планування, оснащення та експлуатація приміщень визначаються нормами ВНТП-АПК-24.06 норми технологічного проектування, затверджені Мінагрополітики України, для підприємств, що займаються переробкою молока, згідно з якими передбачено:

- раціональне розміщення обладнання для мінімізації довжини трубопроводів і уникнення зустрічних потоків сировини та готового продукту;
- дотримання вимог ЗУ «Про охорону праці» й «Про пожежну безпеку»;

- виробництво кефірної закваски проводиться у приміщенні, яке одночасно використовується для підготовки посівного матеріалу молочнокислих бактерій та дріжджів;
- організацію виробничих зон за послідовністю технологічного процесу, що виключає перехресні потоки продуктів [9].

Санітарно-гігієнічні вимоги до території підприємства, освітлення, вентиляції, кондиціонування та водопостачання регламентовані ДСП 4.4.4-011-98.

Для галузі виробництва заквасок є обов'язковим дотримання стандартів належної виробничої практики (GMP). Приміщення повинні належати до категорії чистих зон, а технологічні процеси — проводитись у закритих системах, щоб запобігти вторинному або перехресному забрудненню.

Згідно з Наказом МОЗ України № 502, основні етапи технологічного процесу виготовлення бактеріального концентрату, зокрема сушіння біомаси, заморожування і фасування, виконуються у приміщеннях класу чистоти С, оскільки на цих стадіях продукт контактує з повітрям, а кінцева стерилізація в тарі споживчій не проводиться.

Таблиця 1.2 [10, 11] містить опис технологічних приміщень, задіяних у процесі виробництва бактеріального концентрату для кефірної закваски.

Таблиця 1.2

Вимоги до приміщень

Приміщення	Клас чистоти	КУО/м ³ повітря, не більше	Наявність у повітрі мікрочасток, шт/м ³			
			Оснащений стан		Функціональний стан	
			≤5 мкм	> 5 мкм	≤5 мкм	> 5 мкм
В якому готують миючі, дезінфікуючі розчини; маркують і пакують готову продукцію	Не класифікується	-	-	-	-	-
Для підготовки посівного матеріалу, культивування мікроорганізмів на виробництві, збір біомаси з культуральної рідини, приготування сирої біомаси до ліофілізації, її гомогенізацію, фрістація та дегідратація, а також фасування та герметизацію у флакони.	C	100	0,35 млн	2000	3,5 млн	20000
Де готують поживне середовище та розчин для регуляції рН, «чистий» коридор	D	200	$3,5 \cdot 10^6$	$2 \cdot 10^4$	Не нормується	Не нормується

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Обґрунтування вибору об'єкту дослідження

За аналітичними звітами Всесвітньої організації охорони здоров'я, у світовому масштабі простежується постійне погіршення здоров'я населення, що, зокрема, проявляється високим рівнем поширення дисбактеріозу кишківника. З неофіційних джерел, з порушенням мікробіоти стикається до 90 % населення планети. Основними чинниками розвитку цього стану є неконтрольоване застосування антибіотиків, порушення режиму та балансу харчування зменшення імунної реактивності організму через стресові впливи або інфекційні захворювання, а також посилення техногенного і хім. навантаження на людину.

З огляду на це, регулярне вживання кисломолочних продуктів розглядається як один із найефективніших способів підтримання здорової мікрофлори кишечника. Такі продукти, у поєднанні з відповідною терапією, сприяють відновленню балансу корисних бактерій. Особливе місце серед них займає кефір, дія якого базується на антагоністичній активності його мікрофлори відносно патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів [12].

До складу кефіру входять молочнокислі бактерії, що забезпечують молочнокисле бродіння і синтезують молочну, оцтову та пропіонову кислоти із вуглеводів. Завдяки цьому споживання кефіру знижує кислотність шлункового вмісту до рН 4,5 і нижче, створюючи умови, несприятливі для розвитку патогенних мікроорганізмів.

Мікрофлора кефіру також продукує лізоцим та сполуки з антибіотичною активністю — зокрема лактолін, реутерин, лактоцидин, плантарицин. Ці речовини пригнічують ріст патогенів, запобігають їх фіксації на слизовій оболонці кишечника, що робить кефір функціональним пробіотиком комплексної дії.

Окрім цього, кефірні мікроорганізми стимулюють імунну систему

шляхом утворення біологічно активних пептидів, які активують ТН1-опосередковану імунну відповідь. Це проявляється у підвищенні активності макрофагів, інтенсифікації фагоцитозу, збільшенні продукції оксиду азоту (NO) та цитокінів, що в сукупності сприяє зростанню рівнів IgG, IgA і кількості В-лімфоцитів [13].

Згідно з вимогами ДСТУ 4417:2005, термін зберігання кефіру складає від 3 до 5 діб, тому для забезпечення якості рекомендується самостійне приготування свіжого продукту із використанням готових заквасок.

Серед потенційних споживачів кефіру в Україні виділяють людей з непереносимістю лактози, які становлять приблизно 16 % населення, тобто близько 6,5 млн осіб. Це пояснюється тим, що під час ферментації лактоза перетворюється на молочну кислоту, і її вміст у готовому напої мінімальний [4]. Водночас, за даними маркетингових досліджень компанії «GoodFood», в Україні кількість осіб, які можуть бути потенційними споживачами кефірних заквасок, становить близько 5–6 мільйонів. [14].

Асортимент ринку заквасок в Україні наведений на рисунку 2.1

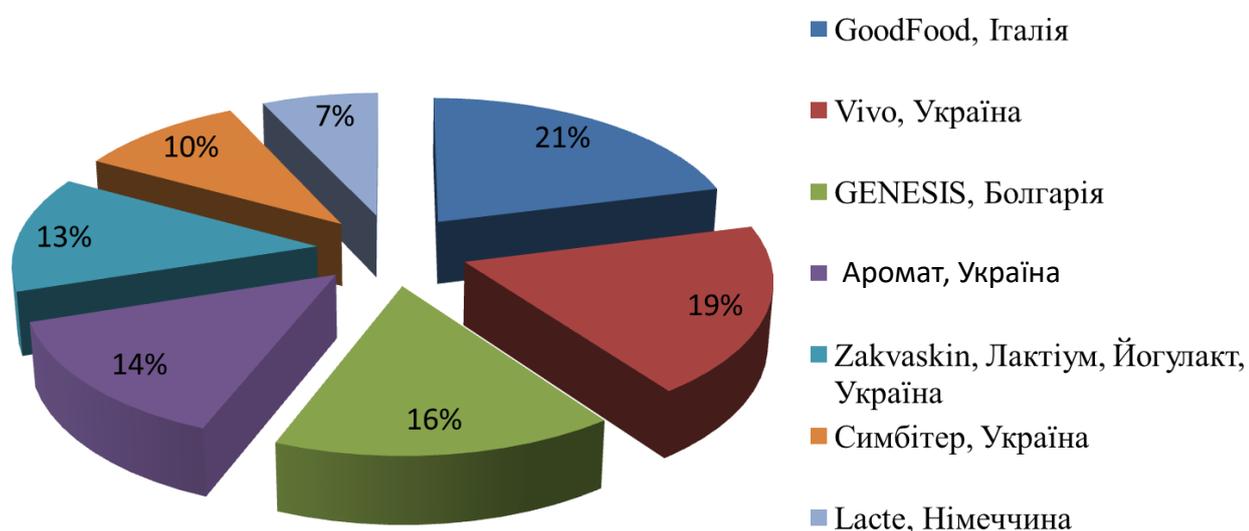


Рис. 2.1. Асортимент ринку заквасок в Україні [15]

Згідно з даними, представленими на рисунку 2.1, частка іноземних виробників на українському ринку заквасок є приблизно 44 %. Серед цих компаній провідні позиції утримують фірми «GoodFood» і «Genesis».

Розробкою та виробництвом бактеріальних заквасок, призначених безпосередньо для виготовлення кефіру, займаються підприємства, перелічені у додатку Г.

Іноземні виробники презентують значно дорожчі бактеріальні закваски порівняно з українськими виробниками. Крім того, переважна більшість заквасок, присутніх на ринку, мають лише окремі штами мікроорганізмів, характерних для кефірних грибків, тоді як повноцінну мікробіоту, відповідно до вимог ДСТУ 4417:2005, мають лише дві закваски – виробництва компаній «Аромат» та «Vivo». Слід відзначити, що бактеріальні культури «Аромат» були розроблені в рамках співпраці з ІПР НААН України, а закваски «Vivo» розробляються на базі науково-дослідних інститутів США, Франції, Італії та Німеччини.

Таким чином, розширення вітчизняного виробництва бактеріальних заквасок для кефіру є стратегічно доцільним кроком, адже воно сприятиме зменшенню залежності від імпортової продукції та посиленню позицій національних виробників на внутрішньому ринку.

2.2. Технологія виробництва бактеріальної закваски для кефіру

Проектована технологічна схема виробництва бактеріального концентрату закваски для кефіру передбачає отримання 7,5 кг ліофілізованої біомаси за один виробничий цикл. Тривалість повного циклу, що охоплює стадії підготовки живильного середовища, основного технологічного процесу, виділення, сушіння, фасування та пакування готової продукції, становить орієнтовно 9 діб. Відповідно, середньорічна потужність підприємства розраховується з урахуванням кількості таких циклів у календарному році:

$$P_{\text{ср}} = 365 * 7,5 / 9 = 304 \text{ кг/рік}$$

$$U \text{ флаконах } 304000 / 0,5 = 608000 \text{ штук}$$

$$U \text{ пачках } 608000 / 4 = 152000 \text{ штук}$$

Сучасні методи отримання бактеріального концентрату закваски для кефіру базуються на використанні кефірної грибкової культури «Київська К-1», яка дозволяє відтворити мікробіологічний склад, максимально наближений до природної мікрофлори кефірних грибків.

Технологічна схема такого виробництва передбачає низку послідовних етапів:

- повернення життєздатності кефірних грибків у пастеризованому знежиреному молоці (у пропорції 1:40) при температурі 20 ± 2 °C протягом 16–18 годин;
- відділення заквасної маси від грибків, які в результаті зростають у масі приблизно в п'ять разів, шляхом фільтрування крізь ватно-марлевий фільтр або металеве сито;
- накопичення біомаси у тому ж поживному середовищі протягом 14–18 годин при 20 ± 2 °C; подальше центрифугування для відокремлення клітинної маси;
- змішування захисного середовища з отриманою біомасою;
- зберігання при -18 °C упродовж 20 годин;
- сублімаційне сушіння в діапазоні температур від -18 °C до $+26$ °C (24 години);

подрібнення висушеного матеріалу та фасування готового препарату.

У результаті отримують закваску зі складом:

- молочнокислі бактерії – $3 \cdot 10^{11}$ КУО/г;
- оцтовокислі бактерії – $1 \cdot 10^2$ – 10^5 КУО/г;
- дріжджі – $5 \cdot 10^3$ – 10^6 КУО/г

Проте, через значні коливання у кількісному співвідношенні мікроорганізмів, така закваска не забезпечує стабільного співвідношення між процесами молочно-, оцтовокислового та спиртового бродіння. Це, в свою чергу, спричиняє нестабільний мікробіологічний склад та непостійні органолептичні властивості готового продукту [6, 16].

Найбільш схожою на проєктовану є технологія виготовлення

концентрату, що базується на використанні кефірних грибків з додаванням чистої культури лактозоброджуючих дріжджів *Candida kefir*. Технологічний процес включає наступні етапи.

Послідовність технологічних операцій така:

- вирощування грибків кефірних у знежиреному пастеризованому молоці у пропорції 1:40–60 при температурі 20 ± 2 °C протягом 16–18 годин;
- сепарація закваски з грибкової маси за допомогою фільтра;
- культивування дріжджів *Candida kefir* ТІММ 5100 на стерильному глюкозо-пептонному середовищі при температурі 30 °C протягом 24 годин;
- накопичення біомаси при температурі 26 ± 2 °C протягом 16 годин при співвідношенні грибкової закваски та дріжджів 1:1. Як поживне середовище використовується ферментативно гідролізоване знежирене молоко, збагачене солями марганцю, цитратом натрію, кукурудзяним екстрактом, ацетатом натрію, глюкозою та аскорбіною кислотою. Коригування рН проводять 25% розчином аміаку до значень 6,4–6,5;
- центрифугування для виділення клітинної маси; змішування біомаси з додаванням захисного середовища (глюкоза, аскорбінова кислота, желатин, автолізат дріжджів);
- заморожування при -18 °C (16 годин);
- сублімаційне сушіння (-18 °C \rightarrow $+26$ °C) протягом 18–24 годин;
- подрібнення та фасування продукту.

Склад такої закваски:

- молочнокислі бактерії – $1,12 \cdot 10^{12}$ КУО/г (лактобацили – 10^8 , лактококи – 10^{11});
- бактерії оцетовокислі – $0,1 \cdot 10^9$ КУО/г;
- дріжджі – $2 \cdot 10^7$ КУО/г [16].

Основними недоліками цього способу є тривалість процесу, пов'язана з гідролізом білків, а також короткий строк зберігання кефіру, виготовленого на такій заквасці. Надмірна кількість бактерій оцетовокислих і лактобацил

може зумовити дефекти продукту – слизистість та надлишкову кислотність [6].

Для усунення виявлених технологічних недоліків була розроблена оновлена методика виробництва кефірної бактеріальної закваски. Вона базується на використанні біостабілізованого кефірного грибка сумісно з дріжджами *S. unisporus* IMB Y-5040 та з бактеріями *L. diacetylactis* IMB B-7295 L., *lactis* IMB B-7296, *S. thermophilus* IMB B-7292. Цей склад мікроорганізмів забезпечує збалансовану мікробіологічну структуру закваски та стаю високоякісну кінцеву продукцію [7, 17].

Запропоновані штами молочнокислих бактерій сприяють формуванню приємного кисломолочного смаку, однорідної текстури й характерного аромату. Штам *L. diacetylactis* продукує леткі кислоти, діацетил і ефіри, що посилює ароматичні властивості. Крім того, усі бактерії характеризуються фагостійкістю, а внесення *S. unisporus* дозволяє подовжити термін зберігання кефіру до 14 діб без зміни його властивостей.

Виробнича схема включає:

- нарощування грибків у молоці (1:40, 20 ± 2 °C, 16–18 годин);
- відділення закваски за допомогою вібросита;
- Культивування трьох штамів молочнокислих бактерій здійснюють у пастеризованому молоці з пониженим вмістом жиру, підтримуючи температуру в межах 32–37 °C протягом приблизно 12 годин.
- Культивування дріжджових клітин здійснюють у глюкозо-пептонному середовищі за стабільної температури 25 °C протягом трьох діб.
- Формування та накопичення біомаси у живильному середовищі, що включає пентон, солі, суху сироватку, лактозу, антиоксидантні компоненти і дріжджовий екстракт.
- Центрифугування для відділення біомаси.
- Змішування біомаси і середовища захисту, яке складається із сахарози, желатину, фосфатів, цитратів, а також солей кальцію та магнію.
- заморожування при -35 °C упродовж 14 годин;

- сублимаційне сушіння ($-35\text{ }^{\circ}\text{C} \rightarrow +32\text{ }^{\circ}\text{C}$, 16 годин);
- подрібнення й фасування у флакони.

У порівнянні з існуючим методом, запропонована технологія дозволяє після ліофілізації підвищити виживаність дріжджів на 18 %, вихід сухої біомаси збільшується в 1,8 рази та скоротити час сквашування на одну годину [6].

Подальше вдосконалення процесу передбачає підвищення рівня автоматизації виробництва, що знижує ризик мікробного забруднення та скорочує ручну працю. Замість колб і термостатів застосовуються реактори-змішувачі, вібросито замінює ватно-марлевий фільтр.

Для фростації та дегідротації застосовують сучасний ліофілізатор фірми KEMOLO, він об'єднує обидва процеси в одному апараті. Це скорочує тривалість виробництва, мінімізує ризик контамінації та знижує енергоспоживання майже на 30 %. Додатково застосування екологічно безпечного холодоагенту R404A зменшує викиди речовин, що руйнують озоновий шар [18].

Уся сировина, що використовується у виробництві, має відповідну нормативно-технічну документацію.

Для виробництва застосовуються молоко знежирене та сироватка, постачання яких може бути організоване ТОВ «Мілкіленд–Україна» (м. Суми).

Інститут ПР виділив культури мікроорганізмів та передав державному мікробіологічному депозитарію.

Враховуючи, що на Сумську область припадає найбільша частка внутрішнього товарообігу (18,3 %) [20], оптимальним місцем для розміщення проєктованого виробництва є м. Суми, оскільки це забезпечує скорочення логістичних витрат, пов'язаних із доставкою основної сировини на підприємство та транспортуванням до торговельних точок виробленої продукції.

РОЗДІЛ 3

ВИРОБНИЦТВО КЕФІРНОЇ ЗАКВАСКИ

3.1. Процес отримання закваски

Трансформації допоміжних компонентів і сировини у готовий продукт здійснюється завдяки ретельно спроектованій та технологічно обґрунтованій організації виробництва. Цикл виробництва на підприємстві включає чотири типи процесів: базові, допоміжні, сервісні та побічні.

Хоча ключовим елементом є базові процеси, що безпосередньо визначають утворення готового продукту, роль допоміжних, обслуговуючих та побічних операцій також має ключове значення для підтримки стабільності та продуктивності виробничого процесу. Допоміжні процеси надають безперервне функціонування основних етапів виробництва, тоді як обслуговуючі виконують роль координаторів – організують та контролюють транспортування, переміщення матеріалів, продукції, їхнє завантаження та якість. Побічні процеси спрямовані на переробку та утилізацію відходів [21].

Виходячи з характеру технологічних операцій, виробничі потужності поділяються на відповідні дільниці: обслуговуючі, основні, допоміжні і побічні. Допоміжні дільниці відповідальні за створення ресурсів і матеріалів, необхідних для нормальної роботи основних підрозділів і виробництва готового продукту. До таких дільниць відносяться:

- підготовка поживних середовищ;
- підготовка дезінфекційних і мийних розчинів;
- пакування та маркування випущеної продукції;
- підготовка спецодягу;
- підготовка та обслуговування обладнання;
- забезпечення чистоти та обробки повітря (фільтри, компресори, теплообмінники);
- отримання пари через парогенератори.

Крім цього, підприємство передбачає наявність складських приміщень та зон контролю якості згідно зі стандартом СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2020 [9]. В складських зонах повинні забезпечуватися належні умови, що гарантують оптимальне зберігання сировини, допоміжних матеріалів та готового продукту. Ділянки, відповідальні за контроль якості, включають у свій склад лабораторії, що гарантують перевірку санітарно-гігієнічних показників, ідентифікація заквашувальних і небажаних мікроорганізмів у використаній сировині та готовій продукції, а також контроль стану питної води та загального санітарного стану підприємства [22].

Енергопостачання забезпечує АТ «Сумиобленерго» у партнерстві з ТОВ «ЕНЕРА СУМИ», а водопостачання і водовідведення – через КП «Міськводоканал».

Найдоцільнішою вважається безперервна форма роботи для біотехнологічних підприємств. Тому заплановане виробництво діятиме цілодобово, із поділом робочого процесу на три восьмигодинні зміни. Тривалість робочого року надається з урахуванням запланованих перерв і можливих непередбачених зупинок виробництва, включаючи планові та капітальні ремонти. Рекомендовано здійснювати планові ремонти кілька разів протягом року, зводячи до мінімуму періоди простою обладнання. Загальна тривалість таких робіт становить близько 5 діб, що забезпечує річний робочий час на рівні 360 днів.

Планові зупинки проводять декілька разів протягом року, прагнучи максимально скоротити час простою обладнання; загальна тривалість ремонтних робіт становить близько п'яти діб, тобто за рік робочий фонд – 360 діб. Капітальні ремонти окремих видів обладнання проводяться згідно з технічним паспортом та затвердженою нормативно-технічною документацією. Усі ремонтні операції здійснює спеціально підготовлений та призначений для цього персонал, а всі дії фіксуються в спеціальних журналах з планом заходів на майбутнє.

3.2. Характеристика закваски та основних етапів її виготовлення

Найменування продукту: «Бактеріальний концентрат закваски для кефіру».

Технічні умови України ТУ У 15.5-00419880-100:2010 регулюють технічні вимоги до сухих і рідких заквашувальних культур.

Призначення: Продукт застосовується для отримання традиційного кисломолочного напою – кефіру. Виготовлений із цієї закваски кефір має профілактичну дію при цукровому діабеті та ожирінні, володіє імуностимулюючими властивостями, добре впливає на шлунково-кишковий тракт, сприяє нормалізації кровотворних процесів, підтримує водно-сольовий баланс і забезпечує правильну ниркову функцію.

Складається з: кефірний грибок, *L. diacetylactis*, *L. lactis*, *S. unisporus*, *S. thermophilus*.

Продукт випускається у вигляді порошкоподібної субстанції, фасованої у флакони по 0,5 г [21]. Закваска повинна відповідати визначеним характеристикам і нормативам, наведеним у додатку В.

Щоб отримати кефір за допомогою розробленої бактеріальної закваски, необхідно у флакон із порошковою закваскою додати незначний об'єм молока, щільно закрити його кришкою та добре струсити. Об'єм молока, що використовується (1–3 л), має бути попередньо підготовлений: його слід пастеризувати в продовж п'яти хвилин потім знизити до температури 30–37 °С. Після цього вміст флакону вводять у підготовлене молоко і залишають у теплі для процесу сквашування на 7–9 годин [25].

Щодо упаковки: закваска розфасована у полімерні флакони по 0,5 г відповідно до ТУ У 25.2-32414582-002-2004 та герметично закупорена полімерними кришками. Чотири флакони разом з інструкцією поміщаються у картонну коробку відповідно до вимог ДСТУ 7276:2012. Згідно з ТУ 9570-001-52689689-2014 кожен флакон маркується самоклеючою етикеткою.

Маркування. Кожна етикетка флакону повинна містити:

- найменування продукту;

- відомості про виробника (назва, адреса виробничих потужностей, контактний телефон);
- торговий знак;
- чиста вага;
- склад та попередження щодо споживання певними категоріями населення;
- дата виготовлення/пакування або термін придатності;
- умови зберігання;
- посилання на нормативний документ та сертифікацію;
- відсутність ГМО

На вторинній упаковці (картонній пачці) додатково вказується призначення продукту, інструкція з приготування, протипоказання та штрих-код [26].

Групове та транспортне маркування картонних ящиків із гофрованого матеріалу виконується відповідно до ГОСТ 14192-96 і включає інформацію про кількість упакваних пачок та необхідні розпізнавальні знаки.

Щодо перевезення: продукт переміщують у герметично ізольованих транспортних засобах із дотриманням чинних норм перевезення швидкопсувних вантажів, що діють для конкретного виду транспорту.

Зберігання. Закваску рекомендується зберігати у заводській упаковці в сухих, темних приміщеннях при температурі 4 ± 2 °C або при $-16 - -20$ °C.

Строк зберігання закваски складає 1 рік в температурі 4 ± 2 °C та 18 місяців у замороженому стані за температури $-16 - -20$ °C [23].

3.3. Біологічні процеси, що відбуваються під час ферментації

Головним продуктом виробництва є бактеріальна закваска, яка формується на основі біомаси мікроорганізмів. У цьому контексті під біохімічними перетвореннями розуміють усі метаболічні процеси мікроорганізмів, що забезпечують синтез ключових продуктів, які складають біомасу.

Бактерії молочнокислі є ключовими компонентами закваски, які

отримують енергію для свого метаболізму переважно з вуглеводів. Спрощене зображення їхніх метаболічних шляхів наведено на рис. 3.1.

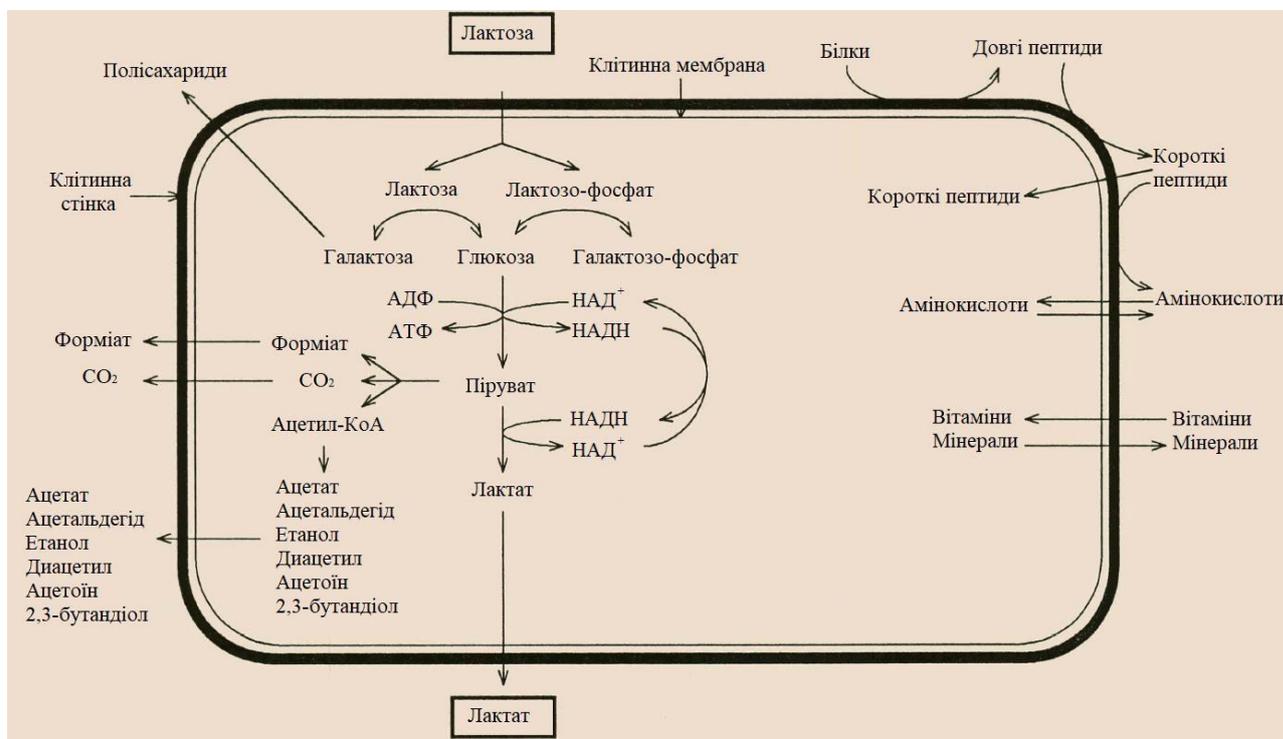


Рис. 3.1. Схематичний метаболізм МКБ [25]

Молочнокислі бактерії мають два основні типи катаболізму вуглеводів: гомоферментативний та гетероферментативний (рисунок 3.2).

Глюкоза в гомоферментативних МКБ розщеплюється за допомогою Ембдена–Мейєргофа–Парнаса, при цьому кінцевий продукт лактат, на який припадає щонайменше 85 % перетвореної глюкози.

Гетероферментативні молочнокислі бактерії, у яких відсутні ключові ферменти альдолаза та тріозофосфатізомераза, метаболізують глюкозу за пентозофосфатним маршрутом, внаслідок чого утворюються майже рівні молекулярні обсяги CO_2 , етанолу і лактату. При цьому енергетичний вихід складає лише 1 моль АТФ на молекулу глюкози, тоді як гомоферментативний метаболізм продукує вдвічі більше – 2 молі АТФ з однієї молекули глюкози.

В присутності сполук, що приймають електрони – наприклад, фруктози, цитрату, малату, фумарату, кисню або ненасичених жирних

ацетальдегід, який далі за допомогою алкогольдегідрогенази відновлюється до етанолу [31].

Синтез оцтової кислоти може відбуватися двома шляхами:

- Зворотне окиснення етанолу до ацетальдегіду з участю алкогольдегідрогенази та подальше перетворення ацетальдегіду на оцтову кислоту дегідрогеназою із повторним відновленням НАД.
- Біотрансформація пірувату через утворення ацетил-КоА за участю піруватдегідрогенази, наступна фосфотрансацетилазна реакція утворення ацетилфосфату та остаточний етап утворення ацетату відбувається за участю ферменту ацетаткінази, що супроводжується синтезом однієї молекули АТФ [32].

Хоча головним метаболітом, що утворюється, залишається молочна кислота, побічні метаболіти відіграють важливу роль у формуванні якості та характеристик кінцевого продукту. Зокрема, леткі вторинні сполуки відповідають за специфічний аромат і смак кефіру.

Особливу роль у формуванні аромату відіграють бактерії *Lactococcus diacetylactis*, які є основними ароматоутворюючими компонентами закваски. Ці мікроорганізми можуть застосовувати цитрат як енергетичне джерело, перетворюючи його на ацетон, діацетил і CO_2 [24]. Метаболічні шляхи *Lactococcus diacetylactis* представлені на рисунку 3.3, де сині стрілки позначають реакції генерації НАДН, а червоні – реакції його споживання.

Як ілюструє рисунок 3.3, у *Lactococcus diacetylactis* цитрат транспортується всередину клітини за допомогою цитратпермеази (CP) та розщеплюється ферментом цитратліазою (CL) до ацетату й оксалоацетату. Далі оксалоацетат піддається декарбоксилюванню за участю оксалоацетатдекарбоксилази (OD), утворюючи піруват. Цей процес споживання цитрату призводить до збільшення пулу пірувату в клітині без додаткового утворення НАДН.

Надлишок пірувату спрямовується по ацетоїновому шляху, що включає ферменти α -ацетолактатсинтазу (ALS) та α -ацетолактатдекарбоксилазу

(ALD). Проміжний продукт цього шляху – α -ацетолактат – є нестабільним і може перетворюватися двома способами: ферментативно, через неокислювальне декарбоксилювання, у ацетоїн, або спонтанно, шляхом окислювального декарбоксилювання, у діацетил за наявності кисню. Таким чином, більшість α -ацетолактату трансформується в ацетоїн, проте частково утворюється і діацетил при аеробних умовах [30, 33].

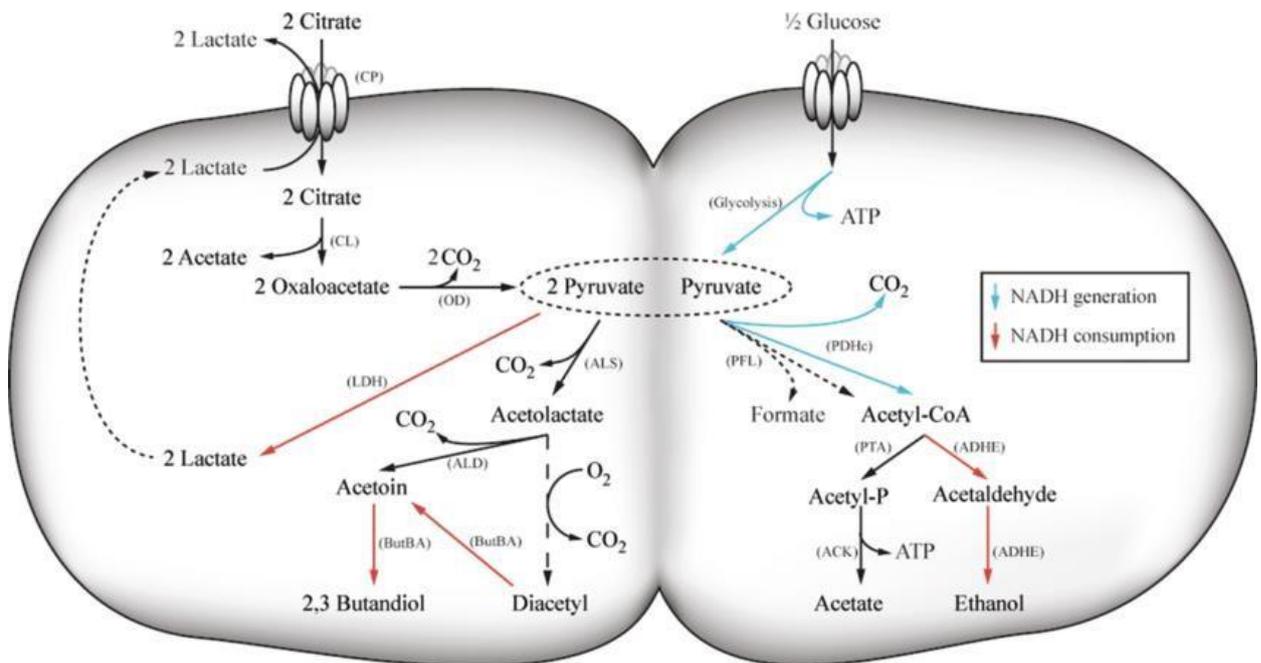


Рис. 3.3. Центральний метаболізм *Lactococcus diacetylactis*.

Абревіатури для ферментів: CP - цитратпермеаза; CL - цитратліаза; OD - оксалоацетатдекарбоксилаза; ALS - α -ацетолактатсинтаза; ALD - α -ацетолактатдекарбоксилаза; ButBA - бутандіолдегідрогеназа; ЛДГ - лактатдегідрогеназа; PFL - піруватформіатліаза; PDHc - піруватдегідрогеназний комплекс; PTA - фосфотрансацетилаза; ACK - ацетаткіназа; ADHE – алкогольдегідрогеназа [33]

3.4. Технологія приготування закваски

В попередньому розділі ішлося що, закваску для кефіру виробляють на основі кефірних грибків, доповнених стабілізуючими компонентами у

вигляді МКБ *L. lactis*, *S. thermophilus* і *L. diacetylactis*. До складу також входять дріжджі *S. unisporus*, вони не мають здатності ферментувати лактозу.

Вибір саме цієї комбінації мікроорганізмів ґрунтується на дослідженнях Інституту продовольчих ресурсів НААН України. В межах цих досліджень створили для кефіру три варіанти заквасок і провели всебічний аналіз їхніх фізико-хімічних і мікробіологічних характеристик продукту, одержаного на їхній основі, результати якої представлені у додатку Д.

З аналізу, третя запропонована композиція заквасок вирізняється зниженим рівнем газоутворення, що сприяє тривалому збереженню отриманого кисломолочного продукту та підвищує вираженість його смакових характеристик завдяки підвищеному вмісту ароматоутворюючих молочнокислих бактерій.

Проектоване виробництво передбачає виконання кількох ключових етапів: підготовку та санітарну обробку виробничих приміщень; приготування термолабільних компонентів і середовища живлення для нарощування біомаси посівного матеріалу; підготовку та культивування культур молочнокислих бактерій, кефірних грибків і дріжджів у спеціальних апаратах з метою нарощування та накопичення біомаси; суміщене культивування мікроорганізмів із підготовкою термостабільних інгредієнтів у виробничому апараті; відокремлення біомаси та її підготовку до ліофілізації шляхом введення захисного середовища; заморожування із подальшою сублимаційною сушкою; подрібнення отриманої біомаси та фінальне фасування готового продукту [6].

У порівнянні з прототипом технології, яка передбачає використання кефірних грибків із додатковим введенням чистої культури лактозоброджуючих дріжджів *Candida kefyr*, запропонований метод виробництва бактеріальної закваски демонструє ряд суттєвих переваг. Зокрема, відзначається значно підвищена життєздатність мікроорганізмів, зростання виходу сухої біомаси, збільшується активне функціонування культур. Додатково скорочується час приготування поживного середовища у

зв'язку із відсутністю ферментативного гідролізу молока, скорочується на 6 годин час культивування, етапи заморожування та сублімаційного сушіння скорочуються на 2 і 4 год.

Експериментальним шляхом встановлені найкращі умови культивування на виробництві: підтримання температури на рівні 33 °С забезпечує нарощування біомаси майже в 1,5 раза ефективніше порівняно з культивуванням при 26 °С, що значно підвищує продуктивність технологічного процесу [5, 15].

З метою накопичення маси кефірних грибків та дріжджів виду *Saccharomyces unisporus* та молочнокислих бактерій, серед яких В-7296, В-7295 і В-7292, експлуатують п'ять спеціальних посівних апаратів, кожен об'ємом 0,02 м³. Основне виробниче культивування здійснюється у ферментері ємністю 2 м³, оснащеному перемішувачами та теплообмінними сорочками для підтримки необхідних температурних та гідродинамічних умов.

Виділення клітин із культуральної рідини здійснюють використовуючи такі методи: флотація, фільтрація та центрифугування [32]. Флотацію проводять у флотаторі, передбачає створення піни в культуральній рідині з наступним відділенням клітин, що концентруються у пінистій фазі. Цей спосіб характеризується високою продуктивністю та економічністю, хоча в промисловому масштабі його здебільшого використовують для отримання кормових дріжджів [35].

Фільтрування забезпечує розділення твердих та рідких фаз через пористу перегородку і найкраще підходить для культуральних рідин, де частки мають розмір менше 80 мкм, а вміст твердої фази перевищує 10 %, ефективним є застосування методів фільтрування. Використовують фільтр-преси, вакуумні або стрічкові фільтри, які мають певні обмеження щодо продуктивності, асептичності та повноти розділення [36].

Найбільш ефективним для відокремлення клітин у асептичних умовах є центрифугування, яке базується на дії відцентрових сил. Воно дозволяє

повністю відокремити тверду фазу від рідини навіть при низькому вмісті клітин (до 10 %), хоча відноситься до енергоємного процесу. Для суспензій із дисперсною фазою 1–5 % застосовують центрифугу періодичної дії, якщо >5 % – безперервної. Вибір типу центрифуги визначається розміром часток: фільтрувальні – 30–150 мкм, осаджувальні – 5–40 мкм, трубчасті суперцентрифуги – для ≤ 2 % твердої фази.

Для запланованого виробництва було обрано суперцентрифуга періодичної дії, яка має продуктивність 0,8 м³/год, число обертів 15 тис хв⁻¹, ручне вивантаження осаду. Ці характеристики дозволяють переробити всю культуральну рідину за 90 хвилин, з ефективним відокремленням біомаси [34, 37].

Перед ліофілізацією біомасу готують у спеціально збалансованому захисному середовищі, що містить желатин і сахарозу, а також включає лимоннокислий натрій і солі магнію, кальцію, натрію і калію. Така підготовка після сублімаційного сушіння забезпечує збільшення виживаності молочнокислих бактерій на 1,5 %, дріжджів до 18 % у порівнянні з попереднім методом [6].

Для підтримки життєздатності культур застосовується щадний метод сушіння, сублімаційна дегідротація у вакуумі, яка формує пористу структуру продукту, зберігає ферментативну та метаболічну активність клітин і мінімізує окислювальні та хімічні зміни. На відміну від розпилювальних сушарок, які хоч і швидкі, але значно енерго- та матеріаломісткі, та дорожчі у використанні, вакуумне сушіння є більш економічним та безпечним для мікроорганізмів [32, 34, 36].

Висушену біомасу подрібнюють за допомогою компактних молоткових дробарок, що дозволяє досягти однорідної фракції порошку та забезпечує стабільність готового продукту [36].

3.5. Особливості кефірних грибків

Згідно ДСТУ 4417:2005, щоб отримати кефір молоко сквашують

використовуючи закваски, які вміщують кефірні грибки чи їх концентрат, що робить ці грибки головним компонентом.

Грибки – це асоціація різних мікроорганізмів, що формують природну мікробіоту кефіру. Вони здатні підтримувати життєздатність у знежиреному пастеризованому молоці за температури 4 ± 2 °С, при цьому необхідно щотижневе промивання пастеризованим молоком або водою. Культивування грибків здійснюється при 20 ± 2 °С у знежиреному пастеризованому молоці за періодичного перемішування з формуванням згустку.

При оптимізації виробництва використовують кефірні грибки К-11, вони отримані в Інституті продовольчих ресурсів з молочних продуктів й пропонуються для промислового використання [40].

Основні складові кефірних грибків:

гомоферментативні представники родів *Streptococcus* і *Lactococcus*,
гетероферментативні представники родів *Leuconostoc* та *Lactococcus*,
мезофільні і термофільні представники *Lactobacillus*,
оцетовоокислі бактерії *Acetobacter*,
дріжджі.

На рис. 3.4 наведений склад кефірних грибків [38].

Зовнішній вигляд кефірного грибка (рис. 3.5) нагадує цвітну капусту, діаметр грибка варіює від 3 до 35 мм, а колір змінюється від білого до світло-жовтого [40]. Під час культивування драглеподібні структури збільшуються завдяки накопиченню кефірану – полісахариду, який формує основу грибків. Зовнішній шар цих утворень переважно складається з бактерій (рис. 3.6), тоді як дріжджі переважають у центральній частині.

Рисунок 3.6 демонструє, що в кефірних грибках морфологічно домінують кокоподібні мікроорганізми, найбільшу частку мають диплококи та ланцюжки коків. Паличкоподібні клітини присутні як у великому, так і в дрібному розмірі, тоді як дріжджі мають овальну форму. Коки здебільшого розташовуються зверху дріжджових клітин, тоді як палички заповнюють проміжки між ними [44].

Дріжджі, які є складовою частиною кефірних грибків, поділяються на дві категорії: перша включає види, здатні ферментувати лактозу, серед яких *Brettanomyces anomalus*, *Kluveromyces marxianus* та *Debaryomyces hansenii*; друга група – дріжджі, що не використовують лактозу для утворення спирту та вуглекислого газу, до яких відносяться *S. cerevisiae*, *S. kluyveri*, *S. unisporus*, *Pichia*, *S. exiguus*.

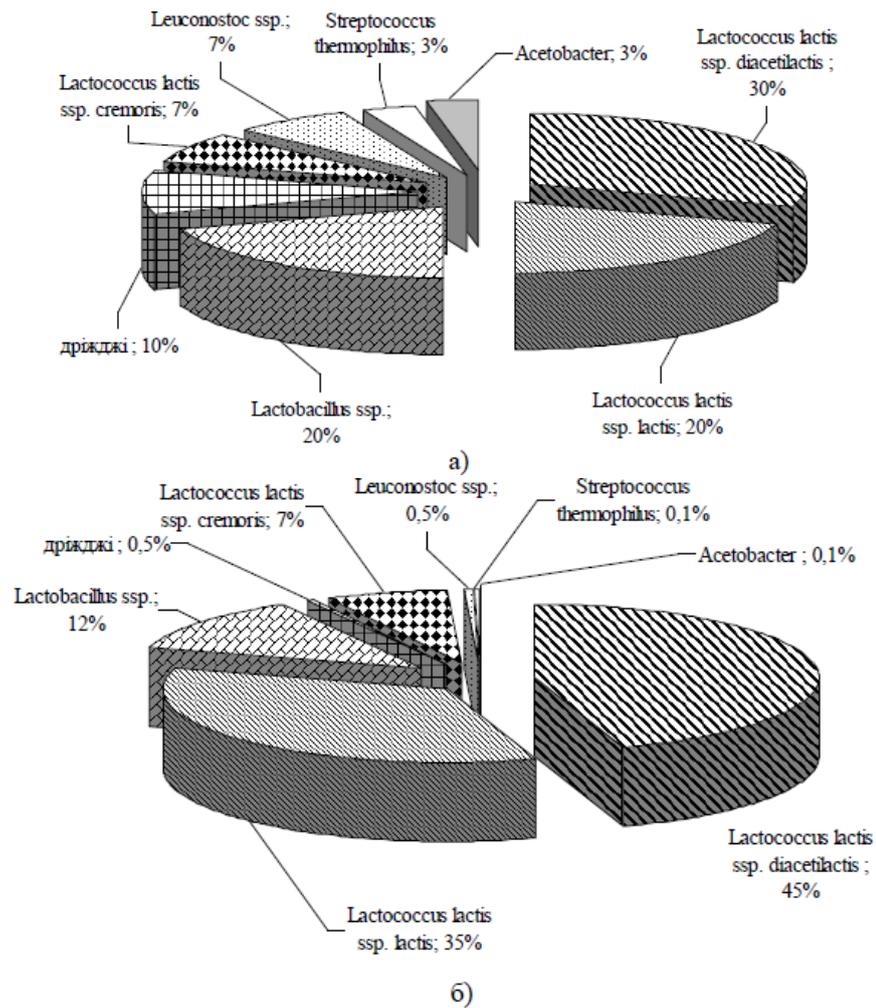


Рис. 3.4. Основні складові кефірного грибка (а) й закваски кефірного грибка (б) [39]



Рис. 3.5. Зовнішній вигляд кефірного грибка [41]

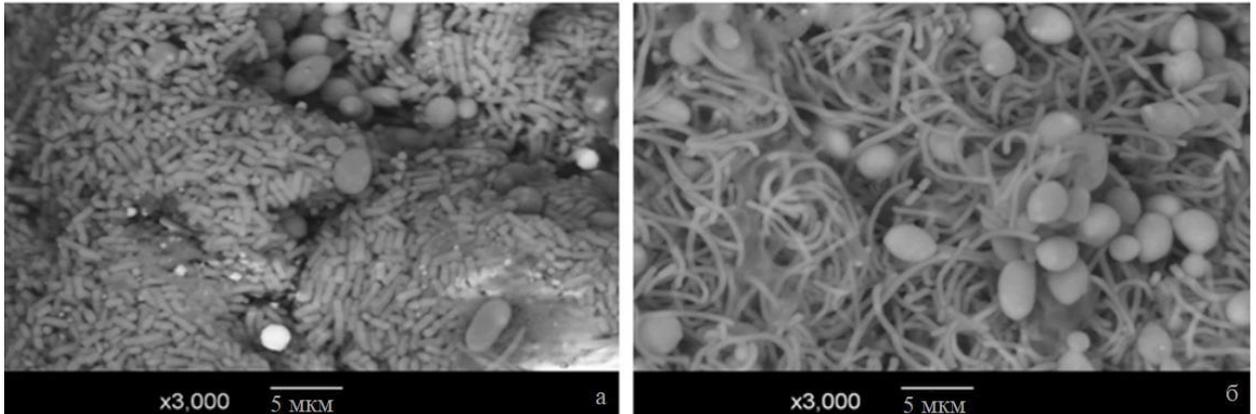


Рис. 3.6. Вид під мікроскопом кефірного грибка: а) ззовні; б) у середині [42]

Органічне існування мікроорганізмів у кефірному грибку допомагає гармонійному розвитку як молочнокислих і оцтовокислих бактерій, так і дріжджів. Щоб покращити смакові характеристики кефіру важливо підбирати склад закваски так, щоб не порушити цей природний баланс [17].

На основі інформації, наведеної на рисунку 3.4, у бактеріальній заквасці для кефіру, у порівнянні з кефірними грибками, відзначається суттєве зменшення чисельності дріжджів (приблизно в 20 раз), а у 30 раз *S. thermophilus*.

Інститут продовольчих ресурсів НААН України врахував ці особливості при розробці удосконаленої бактеріальної закваску для кефіру, до складу якої додатково включені дріжджі, що не ферментують лактозу (*Saccharomyces unisporus*) для подовження терміну зберігання продукту додатково включають молочнокислі бактерії (*Lactococcus diacetylactis*, *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*), що забезпечує

зменшення часу сквашування молока приблизно на чотири години й підвищує органолептичних характеристик кінцевого продукту, зокрема смаку та аромату [5].

Усі мікробні культури зберігаються у ліофілізованому стані, поміщені в герметично закриті флакони і підтримувані при температурному режимі 3–8 °С протягом восьми місяців, що забезпечує їхню тривалу життєздатність. Для підготовки посівного матеріалу спочатку відновлюють ліофілізовані музейні культури у спеціально підібраних поживних середовищах. Після цього виконується етап нарощування біомаси у більших об'ємах посівних апаратів, що дозволяє отримати достатню кількість живих клітин для наступних виробничих процесів.

Кефірні грибки К-11 вирощують у знежиреному пастеризованому молоці за температурного інтервалу 19–21 °С, тоді як молочнокислі бактерії – В-7292, В-7295 і В-7296 вирощують у тому самому молоці за температури 37±1 °С та 32±1 °С. Дріжджові культури *Saccharomyces unisporus* IMB У-5040 розмножують у стерильному глюкозо-пептонному середовищі при температурі 25±1 °С.

На виробництві для культивування мікроорганізмів встановлена оптимальна температура 33±1 °С, при якій процес триває 11–12 годин із підтриманням рН на рівні 6,7±0,1 од., що забезпечує максимальну активність і життєздатність клітин.

Поживне середовище формується з урахуванням потреб усіх культур у ростових факторах та метаболічних сполуках, що гарантує ефективне накопичення біомаси. Для отримання бактеріального концентрату кефірної закваски застосовували поживне середовище, яке містить глюкозу і лактозу як основні джерела вуглецю, суху сироватку та пептон як джерела азоту, а також додаткові компоненти для підтримки росту — солі (тристоронній натрій лимоннокислий, однозаміщений натрій оцтовокислий, марганець сірчанонокислий), вітаміни (аскорбінова кислота) і дріжджовий екстракт, що сприяють підвищенню метаболічної активності культур та стабільності

готового концентрату [6].

ВИСНОВКИ ТА ПРОПОЗИЦІЇ

1. Виробництво заквасок для кефіру набуває особливої актуальності у світлі зростання смертності, пов'язаної з надмірною масою тіла — щорічно від цього помирає близько 3,4 млн осіб. ВООЗ рекомендує обмежувати калорійність раціону та віддавати перевагу продуктам із низьким вмістом цукрів і жирів, серед яких особливе значення мають кисломолочні продукти.

2. Розрахунки технологічного процесу виконані для ферментера об'ємом 2 м³, що забезпечує річну продуктивність у 300 кг, або приблизно 600 000 флаконів. Така потужність відповідає середньому рівню підприємства та має потенціал для заміщення імпорتنих заквасок на внутрішньому ринку. В рамках проєкту складено перелік нормативно-технічної документації (НТД) для сировини молочного та немолочного походження, матеріалів, повітря, води, готової продукції, визначено документи для встановлення нормативів у технологічних приміщеннях.

3. За удосконалення виробництва використовують такі мікроорганізми-продуценти: кефірні грибки К-11, В-7292, В-7295, В-7296, і дріжджі У-5040 із сумарним виходом біомаси 7,75 г/л. Враховуючи фізіолого-біохімічні та культуральні властивості цих мікроорганізмів, встановлено оптимальні параметри процесу: температура культивування 33 ± 1 °С, рН $6,7 \pm 0,1$, надлишковий тиск $0,04 \pm 0,01$ МПа, швидкість перемішування 50–70 об/хв.

4. Запропоновано модернізацію технології виробництва бактеріального концентрату кефірної закваски через підвищення рівня автоматизації процесу із застосуванням сучасного обладнання. Це рішення дозволяє зменшити ручну працю та знизити ризик контамінації готової продукції.

5. Надано комплексну характеристику сировини та матеріалів, включно з показниками НТД, що обов'язково перевіряються, а також

їх функціональним призначенням. Охарактеризовано кінцевий продукт за складом, призначенням, органолептичними, фізико-хімічними та мікробіологічними показниками, а також за культуральними й морфолого-фізіологічними особливостями біологічних агентів, які містяться у заквасці.

ПРОПОЗИЦІЯ ВИРОБНИЦТВУ

Впровадити запропоновану модернізацію технології виробництва бактеріального концентрату кефірної закваски. Це рішення дозволяє зменшити ручну працю та знизити ризик контамінації готової продукції.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Farnworth, E. R. (2005). Kefir – a complex probiotic. *Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods*, 2(1), 1–17.
2. Guzel-Seydim, Z. B., Kok-Tas, T., Greene, A. K., & Seydim, A. C. (2011). Review: functional properties of kefir. *Critical reviews in food science and nutrition*, 51(3), 261–268.
3. ДСТУ 4417:2005. Кефір. Технічні умови. Київ: Держспоживстандарт України, 2006. 14 с.
4. Otles, S., & Cagindi, O. (2003). Kefir: A probiotic dairy-composition, nutritional and therapeutic aspects. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2(2), 54–59.
5. Бурманова, Ю. В. (2019). Мікробіологічні аспекти технології кисломолочних продуктів функціонального призначення. *Науковий вісник ЛНУ ветеринарної медицини та біотехнологій*, 21(93), 85–89.
6. Rodrigues, K. L., et al. (2005). Antimicrobial and healing activity of kefir and kefiran extract. *International journal of antimicrobials agents*, 25(5), 404–408.
7. Codex Alimentarius Commission. (2003). Codex Standard for Fermented Milks (CODEX STAN 243-2003). FAO/WHO.
8. Simova, E., et al. (2002). Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 28(1), 1–6.
9. Witthuhn, R. C., et al. (2005). Microbial population dynamics during the production of kefir. *International Journal of Dairy Technology*, 58, 230–235.
10. Carney, I. (2018). Direct Vat Set (DVS) Cultures: Efficiency in Dairy Processing. *Dairy Processing Handbook*. Tetra Pak Processing Systems AB.
11. Santivarangkna, C., Kulozik, U., & Foerst, P. (2007). Alternative drying processes for the industrial preservation of lactic acid starter cultures. *Biotechnology Progress*, 23(2), 302–315.
12. Патент України на корисну модель № 102345. Спосіб виробництва

- сухого бактеріального концентрату для кефіру. МПК А23С 9/12. Опубл. 25.10.2015, Бюл. № 20.
13. Carvalho, A. S., et al. (2004). Relevant factors for the preparation of freeze-dried lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 14(10), 835–847.
 14. Obesity and overweight [Electronic resource] // Food and Agriculture Organization of the United Nations. Mode of access: <https://www.fao.org/about/meetings/icn2/preparations/document-detail/en/c/253844/>
 15. Obesity and overweight [Electronic resource] // World Health Organization. - Mode of access: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
 16. Starter Cultures Market by Application, Form, Composition, Microorganism and Region – Global Forecast to 2027 [Electronic resource]. Mode of access: <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/starter-culture-market-213083494.html>
 17. Шадрін О. Г. Проблеми діагностики лактазної недостатності у дітей раннього віку / О. Г. Шадрін, К. О. Хомутовська // *Дитячий лікар*. 2014. Т. 5, Вип. 34. С. 5-9.
 18. Інноваційні закваски науковцями нашого підприємства [Електронний ресурс] // Іпровіт закваски. Режим доступу: <https://www.iprovit-shop.com.ua/blog/innovacijni-zakvaski-naukovcami-nasogo-pidpriemstva>
 19. Спосіб одержання бактеріального концентрату прямого внесення на основі грибкової кефірної закваски: пат. 98914 С2 Україна: С12N 1/20, А23С 9/127 / В. В. Гудима, С. Г. Даниленко, Н. Ф. Кігель. № а 2011 12640; заявл. 28.10.2011 ; опубл. 25.06.2012, Бюл. № 12. 8 с.
 20. Про затвердження Державних санітарних правил і норм для молокопереробних підприємств [Електронний ресурс]: Постанова МОЗУ від 11.09.1998 р. №11. Режим доступу: <https://ips.ligazakon.net/document/MOZ15540>
 21. Про затвердження списків і введення в дію гігієнічних регламентів

- шкідливих речовин у повітрі робочої зони і атмосферному повітрі населених місць [Електронний ресурс] : Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 23.02.2000 р. №30. Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0030282-00#Text>
- 22.ВНТП-АПК-24.06. Підприємства з переробки молока. [Чинні від 2000-06-01]. Вид. офіц. Київ: УкрНДІагропроект, 2006. 105 с.
- 23.Настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2020. Лікарські засоби. Належна виробнича практика. [Чинна від 2020-05-04]. Київ : МОЗ України, 2020. 356 с.
- 24.Технологія пробіотиків: підручник / С. О. Старовойтова [та ін.]. Київ : НУХТ, 2012. 318 с.
- 25.Бажеріна К. В. Розроблення комунікаційної стратегії вітчизняних підприємств на ринку кисломолочних бактеріальних заквасок / К. В. Бажеріна, В. В. Стадніченко, О. В. Андаліцька // Економічний вісник НТУУ «КПІ». 2015. № 12. С. 326-332.
- 26.Матвеева О. Л. Біологічна активність заквашувальних композицій кисломолочних продуктів / О. Л. Матвеева, В. В. Старинщак, Л. Р. Решетняк // Проблеми екологічної біотехнології. 2018. № 2. 11 с.
- 27.Дослідити склад мікрофлори кефіру та розробити методичні вказівки щодо її визначення: Звіт НДР (заключний) / Н. Ф. Кігель, Н. М. Шульга, О. В. Бондарчук // НААНУ ТІММ, 2010. 44 с.
- 28.Молочний Альянс, ПРАТ [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://ua.kompass.com/c/молочний-альянс-прат/ua108380/>.
- 29.Шульга Н. М. Організація мікробіологічного контролю на підприємствах молочної промисловості / Н. М. Шульга // Молокопереробка. 2010. № 11. 21 с.
- 30.Науменко О. В. Біотехнологічні підходи збереження активності заквашувальної мікробіоти для виробництва молочної продукції: дис. ... д-ра техн. наук: 03.00.20 / Науменко Оксана Василівна. Київ, 2019. 423 с.

31. ДСТУ 4518-2008. Продукти харчові. Маркування для споживачів. Загальні правила. [Чинний від 2008-08-04]. Київ: УкрНДНЦ, 2008. 38 с.
32. Teleky B.-E. Physicochemical Effects of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus casei* Cocultures on Soy–Wheat Flour Dough Fermentation / B.- E. Teleky, G. A. Martau, D. C. Vodnar // *Foods*. 2020. Vol. 12, № 12. 13 p.
33. Stadie J. Metabolic activity and symbiotic interaction of bacteria and yeasts in water kefir : diss. Dr. rer. nat. / Jasmin Stadie. Munich, 2013. 139 p.
34. Fan D. Microbiome and Metabiotic Properties of Kefir Grains and Kefirs Based on Them / D. Fan, L. G. Stoyanova, A. I. Netrusov // *Microbiology*. 2022. Vol. 91, № 4. P. 339-355.
35. Bhattacharya I. *Saccharomyces unisporus*: Biotechnological Potential and Present Status. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* / I. Bhattacharya, S. Yan, J. S. Yadav, R. D. Tyagi, R. Y. Surampalli // *Comprehensive reviews in Food Science and Food Safety*. 2013. Vol. 12, № 4. P. 353–363.
36. Arai H. Metabolic Features of *Acetobacter aceti* / H. Arai, K. Sakurai, M. Ishii // *Acetic Acid Bacteria. Ecology and Physiology* / ed. by K. Matsushita, H. Toyama, N. Tonouchi, A. Okamoto-Kainuma. Tokyo, 2016. P. 255-271.
37. Doray R. Efficient production of α -acetolactate by whole cell catalytic transformation of fermentation-derived pyruvate / R. Doray, L. Chen, J. Liu, P. R. Jensen, C. Solem // *Microbial Cell Factories*. 2019. Vol. 18. 11 p.
38. Каталог депонованих штамів мікроорганізмів. Київ: ІМВ НАНУ, 2020. 144 с.
39. Leite A. M. Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir: a natural probiotic beverage / A. M. Leite et al. // *Brazilian Journal of Microbiology*. 2013. Vol. 44. P. 341–349.
40. Wang S.-Y. Investigation of microorganisms involved in biosynthesis of the kefir grain / S.-Y. Wang et al. // *Food Microbiology*. 2012. Vol. 32. P. 274–285.

41. Старовойтова А. А. Мікробіологія молока і молочних продуктів : навч. посіб. / А. А. Старовойтова. Біла Церква: Технологіко-економічний коледж Білоцерківського національного аграрного університету, 2017. 153 с.
42. ДСТУ 7357:2013. Молоко та молочні продукти. Методи мікробіологічного контролювання. [На заміну ГОСТ 9225-85; чинний від 2014-01-01]. Вид. офіц. Київ: Мінекономрозвитку України, 2014. 38 с.
43. Клещев М. Ф. Оцінка якості та безпечності продукції: навч. посіб. / М. Ф. Клещев, Т. Д. Костиркіна, Н. Ю. Масалітіна. Харків: НТУ «ХП», 2011. 256 с.
44. ДСН 3.3.6.042-99. Санітарні норми мікроклімату виробничих приміщень. [Чинні від 1999-12-01]. Київ: МОЗ України, 1999. 12 с.
45. Про затвердження методичних рекомендацій щодо виконання санітарно-гігієнічних вимог та проведення мікробіологічного контролю у виробництві нестерильних лікарських засобів [Електронний ресурс]: Наказ МОЗ України від 14.12.2001 р. № 502. Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0502282-01#Text>.
46. ДБН В.2.5-74:2013. Водопостачання. Зовнішні мережі та споруди. Основні положення проектування. [На заміну СНиП 2.04.02-84; чинні від 2014-01-01]. Київ: Мінрегіон України, 2013. 301 с.
47. Про затвердження Правил приймання стічних вод до систем централізованого водовідведення [Електронний ресурс]: Наказ Міністерства регіонального розвитку, будівництва та житлово-комунального господарства України від 01.12.2017 № 316. Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0056-18#Text>
48. ДБН В.2.5-75:2013. Каналізація. Зовнішні мережі та споруди. Основні положення проектування. [На заміну СНиП 2.04.03-85; чинні від 2014-01-01]. Київ: Мінрегіон України, 2013. 223 с.
49. ДБН В.2.5-64-2012. Внутрішній водопровід та каналізація. Частина I.

Проектування. Частина II. Будівництво. [На заміну СНиП 2.04.01-85; СНиП 3.05.01-85; чинні від 2013-03-01]. Київ: Мінрегіон України, 2013. 134 с.

50.ДБН В.2.5-28-2018. Природне і штучне освітлення. [На заміну ДБН В.2.5-28-2006; чинні від 2019-03-01]. Вид. офіц. Київ: Мінрегіон України, 2018. 137 с.

ДОДАТКИ