

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ АВІАЦІЙНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ФАКУЛЬТЕТ ЕКОЛОГІЧНОЇ БЕЗПЕКИ, ІНЖЕНЕРІЇ ТА ТЕХНОЛОГІЙ
КАФЕДРА БІОТЕХНОЛОГІЇ

ДОПУСТИТИ ДО ЗАХИСТУ

Завідувач випускової кафедри

_____ М.М. Барановський

« ____ » _____ 20__ р.

ДИПЛОМНА РОБОТА

(ПОЯСНЮВАЛЬНА ЗАПИСКА)

ВИПУСКНИКА ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ МАГІСТРА
ЗА СПЕЦІАЛЬНІСТЮ «ФАРМАЦЕВТИЧНА БІОТЕХНОЛОГІЯ»

**Тема: «Порівняльний аналіз кількісного вмісту ніацину та вітаміну С у квасі,
виготовленому за різними технологіями»**

Виконавець: студент групи ФБ 204 Лисак Анастасія Костянтинівна

Керівник: к.м.н., доцент

Васильченко Ольга Анатоліївна

Консультант з розділу «Охорона праці»:

Павлиш В. Д.

Консультант з розділу

«Охорона навколишнього середовища»:

Бовсуновський Є.О.

Нормоконтролер:

Лазарєв В. Г.

Київ 2020

НАЦІОНАЛЬНИЙ АВІАЦІЙНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет екологічної безпеки, інженерії та технологій

Кафедра біотехнології

Спеціальність: 162 «Біотехнології та біоінженерія»,

(шифр, найменування)

ОПП «Фармацевтична біотехнологія»

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри

_____ М.М. Барановський

«__» _____ 2020 р.

ЗАВДАННЯ

На виконання дипломної роботи

_____ Лисак Анастасії Костянтинівни

1. Тема дипломної роботи: Порівняльний аналіз кількісного вмісту ніацину та вітаміну С у квасі, виготовленому за різними технологіями

Затверджена наказом ректора від «16» листопада 2019 р. № 2390/ст.

2. Термін виконання роботи: з «14» жовтня 2019р. по «29» грудня 2019 р.

3. Вихідні данні до роботи: квас, вітамін С, ніацин

4. Зміст пояснювальної записки: ВСТУП; РОЗДІЛ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД; РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ; РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА; РОЗДІЛ 4. ОХОРОНА ПРАЦІ; РОЗДІЛ 5. ОХОРОНА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА; ВИСНОВКИ; СПИСОК БІБЛІОГРАФІЧНИХ ПОСИЛАНЬ ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.

5. Перелік обов'язкового графічного (ілюстративного) матеріалу: 13 таблиці, 45 рисунків.

6. Календарний план–графік

№ Пор.	Завдання	Термін виконання	Відмітки про виконання
1	Літературний огляд	14.10.19–28.11.19	
2	Робота над першим розділом дипломної роботи	29.11.19–13.12.19	
3	Робота над другим розділом дипломної роботи	13.12.19–17.12.19	
4	Проведення експериментів	24.12.19–14.01.20	
5	Робота над четвертим та п'ятим розділами	15.01.20–20.01.20	
6	Формулювання висновків	20.01.20–31.01.20	
7	Оформлення дипломної роботи	03.02.2020	
8	Захист дипломної роботи	14.10.19–28.11.19	

7. Консультанти з окремих розділів дипломної роботи

Розділ	Консультант (посада, П.І.Б.)	Підпис, дата	
		Завдання видав	Завдання прийняв
Охорона праці	доц. кафедри Павлиш В.Д.		
Охорона навколишнього середовища	доц. Бовсуновський Є.О.		

8. Дата видачі завдання « 20 » листопада 2019 р.

Керівник дипломної роботи _____

(підпис керівника)

Васильченко О.А.

Завдання прийняв до виконання _____

(підпис випускника)

Лисак А.К.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ, ТЕРМІНІВ	1
ВСТУП.....	4
РОЗДІЛ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД	4
1.1. Характеристика вітаміну С	5
1.1.1. Біохімічні функції вітаміну С	6
1.1.2. Фармакокінетика	6
1.1.3. Гіповітаміноз та авітаміноз вітаміну С	6
1.1.4. Джерела вітаміну С та його продуценти	6
1.2. Характеристика ніацину	5
1.2.1. Біохімічні функції ніацину	6
1.2.2. Фармакокінетика	6
1.2.3. Гіповітаміноз та авітаміноз ніацину	6
1.2.4. Джерела ніацину та його продуценти	6
1.3. Технології виготовлення квасу	5
1.3.1. Сучасні технології виробництва квасу	6
1.3.2. Технологічний процес виробництва квасу	6
1.4. Висновки до розділу	5
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	4
2.1. Об'єкт дослідження	5
2.2. Методи дослідження	5
2.2.1. Йодометричний метод визначення вітаміну С	6
2.2.2. Спектрофотометричний метод визначення вітаміну С	6
2.2.3. Кількісне визначення ніацину	5
2.3. Опис матеріалів необхідних для дослідження	5
2.4. Виділення асоціації мікроорганізмів	5
2.4.1. Виділення асоціації мікроорганізмів з родзинок	6
2.4.2. Виділення асоціації мікроорганізмів з зерен рису	6

2.5. Висновки до розділу.....	5
РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	4
3.1. Кількісний вміст вітаміну С у квасах.....	5
3.1.1. Результати йодометричного методу визначення вітаміну С	6
3.1.2. Результати спектрофотометричного метод визначення вітаміну С	6
3.2. Кількісний вміст ніацину у квасах	5
3.3. Асоціація мікроорганізмів виділена з родзинок	5
3.4. Асоціація мікроорганізмів виділена з зерен рису.....	5
3.5. Висновки до розділу.....	5
РОЗДІЛ 4. ОХОРОНА ПРАЦІ	4
4.1. Небезпечні та шкідливі виробничі фактори, при кількісному визначенні вмісту вітамінів	75
4.2. Технічні та організаційні заходи для зменшення рівня впливу небезпесних та шкідливих виробничих факторів, при кількісному визначенні вмісту вітамінів	5
4.2.1. Розрахунок загальнообмінної вентиляції для нормалізації рухливості повітря – лабораторії біохімії вітамінів інституту біохімії ім. О.В.Палладіна.....	6
4.3. Забезпечення належності вибухової безпеки.....	5
4.4. Висновки до розділу.....	5
РОЗДІЛ 5. ОХОРОНА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА.....	4
5.1. Технології виготовлення квасу	5
5.2. Розрахунок еколого – економічного ефекту	5
5.3. Висновки до розділу.....	5
ВИСНОВКИ	4
СПИСОК БІБЛІОГРАФІЧНИХ ПОСИЛАНЬ ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	4

РЕФЕРАТ

Пояснювальна записка до дипломної роботи «Порівняльний аналіз кількісного вмісту ніацину та вітаміну С у квасах, виготовлених за різними технологіями»: 86 сторінки, 13 таблиці, 45 рисунків, 43 літературних джерел.

Мета роботи – визначити кількісний вміст вітаміну С та ніацину у квасі та вибрати оптимальну технологію його виробництва, що забезпечує максимальний вміст вітаміну С та ніацину.

Об'єкт дослідження – виготовлення квасу за різними технологіями та порівняння вмісту у них вітаміну С та ніацину.

Предмет дослідження – вітамін С, ніацин, квас.

Методи дослідження – аналітичні, біохімічні, мікробіологічні.

ВІТАМІН С, НІАЦИН, КВАС, АСОЦІАЦІЯ МІКРООРГАНІЗМІВ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ, ТЕРМІНІВ

АК – аскорбінова кислота

ДАК – дегідроаскорбінова кислота

ЦТК – цикл трикарбонних кислот

НАД – нікотинамідаденіндинуклеотид

ККС – концентрат квасного суслу

ddH₂O – бідистилят

dH₂O – дистиллят

НК – нікотинова кислота

ТП – технологічний процес

ВСТУП

Актуальність. Збалансоване забезпечення вітамінами дуже важливе для нормального функціонування людського організму. За умов підвищеного нервового та психічного напруження, значних фізичних навантажень, контакту з великою кількістю людей потреби у вітамінах, в тому числі у вітаміні С та ніацині, зростають [1].

У квасі містяться вуглеводи, білки, вітаміни групи В (що включають в себе вітамін С та Н), вітамін Е та інші, сполуки кальцію, марганцю, фосфору та магнію, які легко засвоюються організмом людини. Цей напій тамує спрагу і стимулює секрецію травних залоз, тим самим сприяючи підвищенню апетиту і кращому засвоєнню їжі [2]. Квас має досить довгий термін зберігання та стійкість до різного роду кліматичних та механічних впливів, за правильного зберігання [2].

Квас, виготовлений за різними технологіями, розрізняється за вмістом вітаміну С та ніацину, тому важливо запропонувати технологію, що забезпечує максимальний вміст вітаміну С та ніацину у виготовленому квасі.

Вітамін С не синтезується в організмі людини, але необхідний для його нормально функціонування. Він відіграє важливу роль в окисно-відновних процесах, бере участь в обміні фолієвої кислоти та заліза, регулює зсідання крові, нормалізує проникність капілярів [3].

В організмі людини нікотинова кислота (ніацин, вітамін РР, вітамін В₃) перетворюється в нікотинамід, який зв'язується з коензимами кодегідрогенази I і II (НАД⁺ і НАДФ⁺), які переносять водень, бере участь в метаболізмі жирів, протеїнів, амінокислот, пуринів, тканинному диханні, глікогенолізі, синтетичних процесах [3].

Одними із найбільш точних методів кількісного визначення вітаміну С є йодометричний та спектрофотометричний методи. Для кількісного визначення ніацину був використаний спектрофотометричний метод Степанова[4].

Об'єкт дослідження – виготовлення квасу за різними технологіями та порівняння вмісту у них вітаміну С та ніацину.

Предмет досліджень – вітамін С, ніацин, квас.

Мета роботи – визначити кількісний вміст вітаміну С та ніацину у квасі та вибрати оптимальну технологію його виробництва, що забезпечує максимальний вміст вітаміну С та ніацину.

Завдання до виконання дипломної роботи:

1. Виготовити квас з використанням різних бродильних компонентів.
2. Виділити асоціації мікроорганізмів з бродильних компонентів для виявлення продуцентів вітаміну С та ніацину.
3. Порівняти кількісний вміст вітаміну С та ніацину у квасі, виготовленому за різними технологіями.
4. Запропонувати технологію, що забезпечує максимальний вміст вітаміну С та ніацину у виготовленому квасі.

Методи досліджень – аналітичні, біохімічні, мікробіологічні.

Наукова новизна отриманих результатів. Проаналізовано ефективність дії асоціації мікроорганізмів з різних бродильних компонентів у процесі виготовлення квасу з точки зору виробництва вітаміну С та ніацину.

Практичне значення отриманих результатів. Отримані результати можуть бути використані для подальшого вивчення ефективності продукування вітаміну С та ніацину асоціаціями мікроорганізмів. Технологія, що забезпечує максимальний вміст ніацину та вітаміну С у виготовленому квасі, може бути використана для формування раціону людей з підвищеною фізичною та мозковою активністю.

Особистий внесок випускника. Експериментальна частина (виконана студентом на базі відділу біохімії вітамінів і коензимів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України), аналіз літературних джерел, обробка отриманих результатів.

Апробація отриманих результатів.

РОЗДІЛ 1

ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

1.1. Характеристика вітаміну С

Вітамін С – $C_6H_8O_6$, відносно проста органічна кислота. Аскорбінова кислота – вітамін С (Рис. 1.1.), схожа за структурою до глюкози. Вона існує в 2 формах (рис. 1.2.): відновленої (АК) і окисленої (дегідроаскорбінова кислота, ДАК) [5].

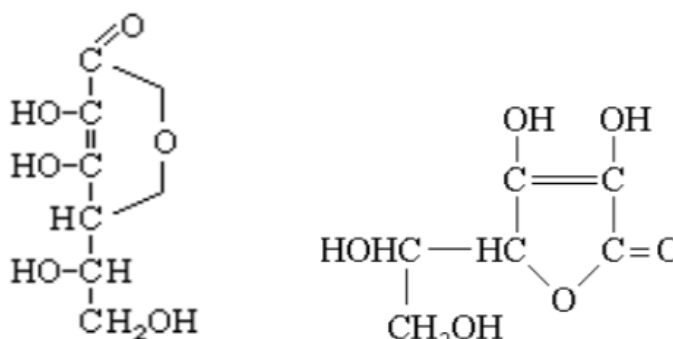


Рис. 1.1. Структурні форми аскорбінової кислоти

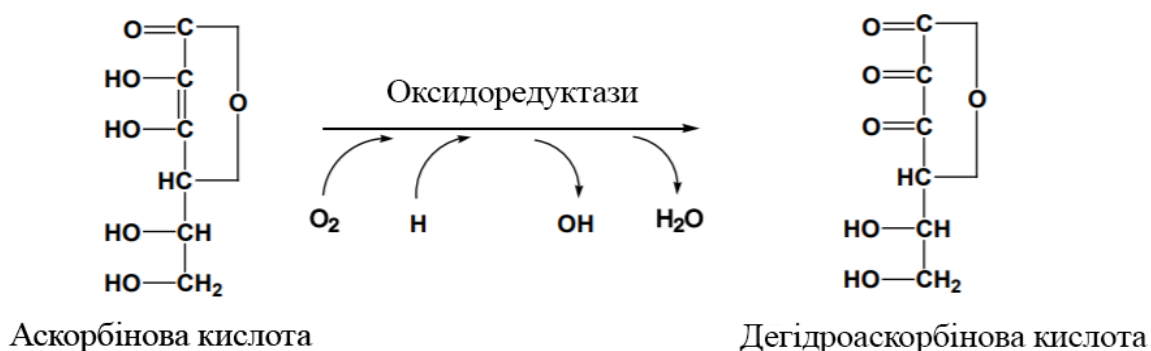


Рис. 1.2. Структура аскорбінової кислоти та дегідроаскорбінової кислоти

Обидві форми аскорбінової кислоти швидко і зворотно переходять одна в одну, і як коферменти беруть участь в окисно – відновних реакціях. Аскорбінова кислота може окислюватися киснем повітря, пероксидом і іншими

окиснювачами. ДАК (дегрідроаскорбінова кислота) легко відновлюється цистеїном, глутатіоном, сірководнем. В слабколужному середовищі відбуваються руйнування лактонового кільця і втрата біологічної активності. При кулінарній обробці їжі в присутності окислювачів частина вітаміну С руйнується [5].

Характеристика речовини *Ascorbic acid* за міжнародною фармакопеею

Вітамінний засіб (вітамін С). Аскорбінова кислота – білий кристалічний порошок кислого смаку. Легко розчинний у воді (1: 3,5), повільно розчинний у етанолі (1:30), абсолютному спирті (1:50), гліцерині (1: 100), пропіленгліколь (1:20). Розчинність у воді: 80,0% при 100 ° С; 40,0% при 45 ° С. Практично не розчинний в ефірі, бензолі, хлороформі, маслах, жирах. Під впливом повітря і світла поступово темніє. У сухому вигляді стабільний на повітрі, водні розчини на повітрі швидко окислюються [6].

Молекулярна маса 176,13.

Натрію аскорбат – дрібні кристали, вільно розчинні у воді: 62 г / 100 мл при 25 ° С, 78 г / 100 мл при 75 ° С.

Більшість приматів (включаючи людину), морські свинки, деякі птахи, риби не можуть синтезувати вітамін С. В організмі людини необхідний запас заповнюється шляхом надходження з їжею [6].

Для медичних цілей аскорбінову кислоту отримують синтетичним шляхом [6].

Метаболізм аскорбінової кислоти

Вітамін С в шлунково-кишковому тракті абсорбується в дистальному відділі тонкого кишечника за участю АТФ (аденозинтрифосфат) залежного транспортера. З збільшенням концентрації вітаміну зростає і його всмоктування, як вважають, за рахунок включення механізму пасивної дифузії [7].

1.1.1. Біохімічні функції вітаміну С

Головна властивість аскорбінової кислоти – здатність легко окислюватися і відновлюватися. Разом з ДАК вона утворює в клітинах окисно–відновну пару з редокс-потенціалом $+0,139$ В. Завдяки цій здатності аскорбінова кислота бере участь у багатьох реакціях гідроксилювання: залишків проліну і лізину при «дозріванні» колагену (основного білка сполучної тканини), при синтезі гіалуронової кислоти і хондроїтинсульфату, при синтезі гормонів наднирників (кортикостероїдів і катехоламінів) і тиреоїдних гормонів, при синтезі біогенного аміну – нейромедіатора серотоніну, при синтезі карнітину, необхідного для окислення жирних кислот [8].

У кишечнику аскорбінова кислота відновлює Fe^{3+} до Fe^{2+} , сприяючи його всмоктуванню, а також прискорює звільнення заліза з феритину, сприяє перетворенню фолату в коферментні форми [8].

Вітамін С бере участь також в імунних реакціях, підвищуючи продукцію захисних білків – нейтрофілів. Високі дози вітаміну стимулюють бактерицидну активність і міграцію нейтрофілів. Мабуть, саме ця функція підвищує потребу організму в аскорбінової кислоті при простудних та інфекційних захворюваннях до $1,0 - 1,5$ м [8].

Аскорбінову кислоту відносять до природних антиоксидантів. Вона сприяє збереженню вітаміну Е, лімітуванню вільнорадикальних реакцій в тканинах, зниженню окиснення ліпопротеїнів в плазмі крові, надаючи антиатерогенний ефект [8].

Вітамін С бере участь в реакціях гідроксилювання:

- деяких ароматичних кислот під час синтезу медіаторів серотоніну і норадреналіну;
- стероїдів (біосинтез гормонів);
- β -бутиробетайну під час синтезу карнітину;

- залишків проліну та лізину в проколагені (посттрансляційна модифікація при утворенні колагену);
- вітаміну D₃ в активну форму – кальцитріол [9].

Крім реакції гідроксилювання, вітамін С:

- забезпечує відновлення іонів заліза Fe³⁺ до Fe²⁺ в кишечнику під час його всмоктування, а також забезпечує вивільнення заліза із феритину в тканинах;
- є потужним антиоксидантом, так як бере участь в реакціях одноелектронного переносу і, відповідно, може взаємодіяти з вільними радикалами, інактивуючи їх. При цьому аскорбінова кислота перетворюється в дегідроаскорбінову;
- відноситься до антиканцерогенів не тільки через її антиоксидантні властивості, але й через здатність безпосередньо запобігати нітрозаміновому канцерогенезу (нітрозаміни – це сильні канцерогени, що утворюються в кислому середовищі шлунку з нітриту і аміносполук їжі) [9].

1.1.2. Фармакокінетика

Має виражені антиоксидантні властивості. Регулює транспорт H⁺ у багатьох біохімічних реакціях, поліпшує використання глюкози в ЦТК (цикл трикарбонових кислот), бере участь в утворенні тетрагідрофолієвої кислоти і регенерації тканин, синтезі стероїдних гормонів, колагену, проколагену, карнітину, гідроксилювання серотоніну. Підтримує колоїдний стан міжклітинної речовини і нормальну проникність капілярів (пригнічує гіалуронідазу). Активує протеолітичні ферменти, бере участь в обміні ароматичних амінокислот, пігментів і холестерину, сприяє накопиченню в печінці глікогену. За рахунок активації дихальних ферментів у печінці посилює її детоксикуючу й білковоутворюючу функції, підвищує синтез протромбіну. Поліпшує жовчоутворення, відновлює внешесекреторную функцію

підшлункової залози і інкреторну – щитовидної. Регулює імунологічні реакції (активує синтез антитіл, С3–компонента комплекменту, інтерферону), сприяє фагоцитозу, підвищує опірність організму інфекціям. Має протизапальну і проти алергенну дію. Гальмує вивільнення і прискорює деградацію гістаміну, пригнічує утворення ПГ та інших медіаторів запалення і анафілаксії. Знижує потребу у вітамінах В₁, В₂, А, Е, фолієвої кислоти, пантотенової кислоти. Недостатність аскорбінової кислоти призводить до розвитку гіповітамінозу, в важких випадках – авітамінозу (скорбут, цинга) [10].

Всмоктується в тонкій кишці (дванадцятипалої, частково – в клубової). Зі збільшенням дози до 200 мг абсорбується до 70%; при подальшому підвищенні дози всмоктування зменшується (50–20%). Патологія шлунково–кишкового тракту (виразка, запор, діарея), глистяні інвазії, лямбліоз, вживання свіжих фруктових і овочевих соків, лужного пиття – зменшують утилізацію аскорбата в кишечнику. С_{max} після прийому внутрішньо досягається через 4 год. Ступінь зв'язування з білками плазми низька (близько 25%). Легко проникає в лейкоцити, тромбоцити, а потім – в усі тканини; найбільші концентрації спостерігаються в залізистій тканини. Депонується в задній частці гіпофіза, корі надниркових залоз, очному епітелії, проміжних клітинах сім'яних залоз, яєчниках, печінці, мозку, селезінці, підшлунковій залозі, легенях, нирках, стінці кишечника, серці, м'язах, щитовидній залозі. Проходить через плаценту. Метаболізується, переважно в печінці, в дезоксиаскорбінову і далі в щавлевооцтову і дикетогулонову кислоти. Незмінений аскорбат і метаболіти виводяться із сечею, фекаліями, потом, грудним молоком. Виводиться при гемодіалізі [10].

При високих дозах, коли концентрація в плазмі досягає понад 1,4 мг/дл, виведення різко посилюється, причому підвищена екскреція може зберігатися після припинення прийому. Куріння і вживання етилового спирту прискорюють руйнування (перетворення в неактивні метаболіти), різко знижуючи запаси в організмі [10].

1.1.3. Гіповітаміноз та авітаміноз вітаміну С

Добова потреба дорослої людини у вітаміні С становить 55 – 108 мг; вагітних і жінок, які годують 72 – 80 мг; дітей першого року життя 30 – 40 мг.

Причиною гіповітамінозу можуть послужити такі фактори, як харчова недостатність або зайва теплова обробка їжі [11].

Особливо активно аскорбінова кислота накопичується в надниркових залозах і тимусі, то ряд симптомів пов'язаний зі зниженою функцією цих органів. Відзначається порушення імунітету, особливо легеневого, розвивається загальна слабкість, швидка стомлюваність, схуднення, задишка, біль у серці, набряк нижніх кінцівок. У чоловіків відбувається злипання сперматозоїдів і виникає безпліддя [11].

При нестачі вітаміну С знижується всмоктуваність заліза в кишечнику, що викликає зниження синтезу гема– та гемоглобіну, і залізодефіцитну анемію. Зменшується активність фолієвої кислоти, що може привести до мегалобластної анемії [11].

У дітей дефіцит аскорбінової кислоти призводить до хвороби Меллера-Барлоу, що виявляється в ураженні кісток: розростання і мінералізація хряща, гальмування розсмоктування хряща, западання грудини, викривлення довгих трубчастих кісток ніг [11].

Повна відсутність вітаміну призводить до цинги – найвідомішому прояву недостатності аскорбінової кислоти. При цьому спостерігається порушення синтезу колагену, гіалуронової кислоти, що призводить до ураження сполучної тканини, ламкості і проникності капілярів і погіршення загоєння ран. Супроводжується дегенерацією одонтобластів і остеобластів, погіршується стан зубів [11].

1.1.4. Джерела вітаміну С та його продуценти

Значна кількість аскорбінової кислоти міститься у продуктах рослинного походження (цитрусових, зелених овочах, дині, броколі, брюссельській капусті, квітковій капуста, чорній смородині, болгарському перці, полуниці, помідорах, абрикосах, персиках, картоплі) [12].

Трави багаті на вітаміна С: люцерна, корінь лопуха, піщанка, очанка, хміль, хвощ, ламінарія, м'ята, кропива, овес, червоний перець, петрушка, листочки малини, щавель [12].

Таблиця 1.1

Вміст вітаміну С у харчових продуктах та рослинах

Продукт	Вміст вітаміну, мг/100г
Шипшина	1250
Обліпиха	450
Смородина чорна	177
Лимон	53
Мед	47
Яблука	31
Ананас	27
Полуниця	25
Груша	5
Молоко	2,0
М'ясо	0,9

Продуценти аскорбінової кислоти

Здатність мікроорганізмів утворювати біотичні речовини відома давно. Дослідження показують, що біотичні речовини утворюються різними мікроорганізмами – бактеріями, грибами, дріжджами, актиноміцетами тощо. За здатністю утворювати біотичні речовини мікроорганізми поділяються на ауксототрофні та ауксогетеротрофи. Перші утворюють всі речовини, необхідні для росту самі, і через це можуть розвиватися на синтетичному авітамінозі; останні не утворюють або, скоріше, не утворюють усіх біотичних речовин і не ростуть на авітамінозі. Серед ґрунтової мікрофлори здатність утворювати різні

активізуючі ріст речовини притаманна дуже багатьом, якщо не всім типам бактерій [13].

Таблиця 1.2

Продуценти аскорбінової кислоти

Бактерії	Дріжджі	Гриби	Макроскопічні водорості
<i>Acetobacter suboxydans</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Hormidium borlowi</i>
<i>Gluconobacter</i>	<i>Saccharomyces vini</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>	<i>Hormidium flaccidum</i>
<i>Erwinia</i>	<i>Endomyces vernalis</i>	<i>Penicillium glaucum</i>	<i>Hormidium nitens</i>
	<i>Willia anomala</i>	<i>Phytophthora Rhizopus</i>	<i>Hormidium stoechidium</i>

1.2. Характеристика ніацину

Ніацин (нікотинова кислота, нікотинамід, вітамін В₃, вітамін РР) – розчинний у воді вітамін, необхідний для багатьох реакцій окиснення у живих організмах. Може існувати в вигляді нікотинової кислоти та нікотинаміду (Рис. 1.3.) [14].

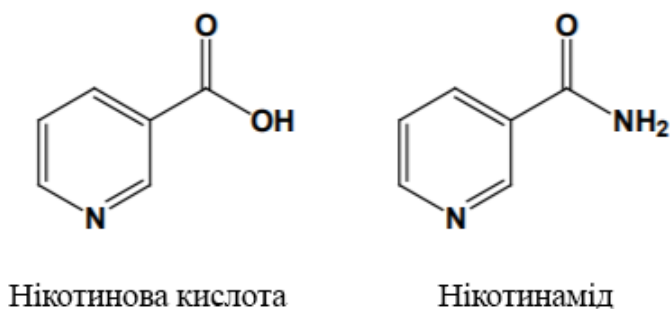


Рис. 1.3. Структура вітаміну РР

Ніацин малорозчинний у воді, але добре розчиняється у водних розчинах лугів. В основі біологічної дії ніацин – його участь як кофактора деяких ферментів, котрі каталізують різні метаболічні реакції в багатьох ланках обміну, насамперед, окисно-відновних реакціях [14].

Ніацин входить до складу багатьох груп ферментів дегідрогеназ, які забезпечують окиснення субстратів та регенерацію атомів водню для

електронно–транспортного ланцюга і синтезу АТФ. Ніацин бере участь у забезпеченні реакцій вуглеводного, білкового, ліпідного, водно–мінерального обміну, функціонуванні нервової й серцево–судинної системи. Міститься в багатьох продуктах рослинного і тваринного походження – печінці, нирках, молочних продуктах, зернобобових культурах, висівках, дріжджах. Добова потреба людини становить 15–25 мг. При тривалому білковому голодуванні й недостатньому надходженні ніацину в організм виникає В₅–авітаміноз, при цьому розвивається захворювання пелагра. Ознаками її є почервоніння та злущення шкіри на відкритих ділянках тіла – обличчі, кистях рук, шиї. Симптомами пелагри також є порушення функцій органів травлення (діарея), яке супроводжується запаленням слизових оболонок кишок та ротової порожнини. Язик стає червоним, з'являються тріщини. Зменшується секреція хлоридневої кислоти в шлунку, порушується кислотність шлункового соку, виникають нудота, діарея, організм виснажується. При тяжких формах В₅–авітамінозу відзначається деменція – розлад діяльності нервової системи, втрата пам'яті, марення, недоумство [15].

Ніацин виявляє гіпохолестеринемічну активність. У високих дозах (3–4 г/добу) він знижує вміст тригліцеридів і β –ліпопротеїнів у крові. Призначають ніацин як специфічну речовину для запобігання й лікування пелагри. Крім того, Н. використовують при захворюваннях ЖКТ (особливо у хворих на гастрит зі зниженою кислотністю), печінки (гострих і хронічних гепатитах, цирозах), при спазмах судин кінцівок, нирок, головного мозку, при невритах лицьового нерва, при атеросклерозі, при ранах та виразках, які довго не загоюються, при інфекційних та інших захворюваннях. Використовують ніацин внутрішньо (після їжі) і парентерально [15].

Характеристика речовини Nicotinic acid за міжнародною фармакопеею

Білий кристалічний порошок без запаху, слабкокислого смаку. Важко розчинний у холодній воді (1:70), краще в гарячій (1:15), мало розчинний в етанолі, дуже мало – в ефірі [16].

Метаболізм ніацину

У складі НАД⁺ і НАДФ⁺ ніацин бере участь в обміні речовин. Є понад 100 нікотинамідзалежних ферментів. НАД⁺ і НАДФ⁺ є коферментами багатьох дегідрогеназ, необхідних для вироблення енергії в клітині: виступають акцепторами і проміжними переносниками атомів водню на початкових стадіях окиснення вуглеводів, жирних кислот, амінокислот, гліцерину, на стадії циклу Кребса і в термінальних стадіях дегідрування в дихальному ланцюзі та монооксигеназному ланцюзі [14].

Таким чином, вітамін В₃ (нікотинова кислота, нікотинамід, вітамін В₅, вітамін РР) бере участь в енергозабезпеченні клітин і в знешкодженні шляхом окиснення природних та чужорідних речовин (монооксигеназний ланцюг окиснення) [14].

Адсорбується в тонкому кишечнику, як нікотинова кислота або нікотинамід. При низьких концентраціях транспортується з допомогою Na-залежною дифузії. При високих концентраціях – пасивна дифузія (Рис. 1.4.) [14].

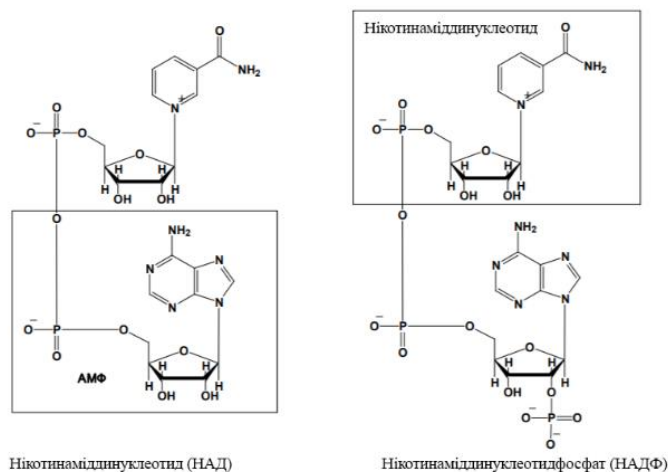


Рис. 1.4. Структура коферментних форм вітаміну РР (НАД і НАДФ)

Синтез НАД в організмі протікає в 2 етапи:

- утворення нікотинамідмононуклеотиду з нікотинаміду під дією нікотинамідмононуклеотидпірофосфорілази;
- взаємодія нікотинамідмононуклеотида з АТФ під дією ферменту НАД пірофосфорілази [14].

НАДФ утворюється з НАД шляхом фосфорилування НАД під дією цитоплазматичної НАД-кінази [14].

1.2.1. Біохімічні функції ніацину

Коферменти НАД і НАДФ входять до складу ферментів, які беруть участь в окисно – відновних реакціях, забезпечуючи перенесення двох атомів водню (Рис. 1.5.) [17].



Рис. 1.5. Утворення відновлених форм НАФ та НАДФ

Завдяки перенесенню атомів водню, вітамін забезпечує наступні завдання:

- метаболізм жирів, білків і вуглеводів. НАД і НАДФ служать коферментами більшості дегідрогеназ і беруть участь в реакціях: синтезу та окиснення жирних кислот, синтезу холестеролу, обміну глутамінової кислоти та інших амінокислот, гліколізу, пентозофосфатного шляху, окислювального декарбоксілювання пірувату, циклу трикарбонових кислот;
- НАДН виконує регуляторну функцію, оскільки є інгібітором деяких реакцій окислення, наприклад, в ЦТК;

- захист спадкової інформації – НАД є субстратом полі-АДФ-рибозилування в процесі зшивання хромосомних розривів і репарації ДНК, що уповільнює некробіоз і апоптоз клітини;
- захист від вільних радикалів – НАДФН є необхідною компонентом антиоксидантної системи клітин;
- НАДФН бере участь в реакціях ресинтезу тетрагідрофолієвої кислоти з дигідрофолієвої, наприклад, після синтезу тимідилмонофосфата [17].

1.2.2. Фармакокінетика

Входить в простетичну групу ферментів, які є переносниками водню: НАД і НАДФ, регулює окислювально-відновні процеси, тканинне дихання, синтез білків і жирів, розпад глікогену [18].

Пригнічує ліполіз в жировій тканині, зменшує швидкість синтезу ЛПДНЩ (ліпопротеїди дуже низької щільності). Нормалізує ліпідний склад крові: знижує рівень загального холестерину, ЛПНЩ, тригліцеридів і підвищує рівень ЛПВЩ, володіє антиатерогенними властивостями. Надає судинорозширювальну дію, також на судини головного мозку, покращує мікроциркуляцію, підвищує фібринолітичну активність крові і зменшує агрегацію тромбоцитів (зменшує утворення тромбоксану А₂) [18].

Сприяє переходу транс-форми ретинолу в цис-форму, яка використовується в синтезі родопсину. Сприяє вивільненню гістаміну з депо і активації системи кінінів [18].

Володіє дезінтоксикаційними властивостями. Виявляє ефективність при хворобі Хартнупа – спадково обумовлене порушення обміну (всмоктування і проникнення в тканини) триптофану, що супроводжується дефіцитом синтезу нікотинової кислоти [18].

Добре всмоктується в пілоричному відділі шлунка і верхніх відділах дванадцятипалої кишки. Частково метаболізується в печінці з утворенням

N – метилнікотинаміду, метілпіридонкарбоксаміду, глюкуроніду і комплексу з гліцином. Виводиться з сечею, переважно в незміненому вигляді [18].

1.2.3. Гіповітаміноз та авітаміноз ніацину

Добова потреба дорослого організму в нікотиновій кислоті або в вітаміні РР стандартно становить: у дорослих чоловіків близько 16 – 28 мг, а у жінок дітородного віку близько 14 – 20 мг, діти до року 2 – 4 мг, діти від 3 до 14 років 14 – 18 мг [19].

Причиною гіповітамінозу можуть послужити такі фактори, як недостатність ніацину і триптофану. Синдром Хартнула [19].

Виникнення ендогенного РР-гіповітамінозу пов'язують із такими факторами:

- дефіцитом фосфопіридоксалу, коли порушується обмін триптофану і гальмується синтез нікотинової кислоти;
- відсутністю субстратів загального ферменту, який каталізує синтез нікотинової кислоти.

Основне значення нікотинової кислоти для організму полягає в тому, що вона входить до складу аденіннуклеотидів, які необхідні у процесах переносу водню з субстрату на флавінові ферменти. При дефіциті вітаміну РР гальмується перший етап в окисно – відновних процесах — утворення АТФ. Порушення процесів окислювального фосфорилування призводить до трофічного розладу організму [19].

Захворюванням пелагра. Виявляється як синдром трьох «Д» діарея (слабкість, розлад травлення, втрата апетиту), симетричний дерматит на ділянках шкіри, доступних дії сонячних променів та деменція (нервові і психічні розлади, слабоумство, втрата пам'яті, галюцинації, марення) [19].

1.2.4. Джерела ніацину та його продуценти

Вітамін РР поширений в рослинних продуктах, високий його вміст в рисових і пшеничних висівках, дріжджах, багато вітаміну в печінці та нирках великої рогатої худоби і свиней. Вітамін РР може утворюватися з триптофану (з 60 молекул триптофану синтезується 1 молекула нікотинаміду), що знижує потреба у вітаміні РР при збільшенні кількості триптофану в їжі [20].

Відкриття цього вітаміну тісно пов'язано з вивченням пелагри (від латинського *pellagra* – дерматит), якою масово почали хворіти люди після Громадянської війни в США. Основним продуктом харчування у них були страви з кукурудзи. В 1915 році американський лікар Гольдбергер прийшов до висновку про залежність хвороби від фактора, що захищає від пелагри. Тому і вітамін одержав назву з двома РР (*pellagra preventing*). Пізніше була вивчена хімічна будова препарату і виявилось, що вона відповідає нікотиновій кислоті. Хоча до нікотину вона не має ніякого відношення. У зарубіжній літературі його ще інколи називають вітаміном В₃. На відміну від інших вітамінів групи В його вважають ліками [20].

Найкращими природними джерелами вітаміну РР є дріжджі сухі (*Saccharomyces cerevisiae*) 40 мг/100 г, пшеничні висівки 30 мг/100 г, печінка 15 мг/100 г, телятина 4,5 мг/100 г та риба 3,0 мг/100 г [21].

Дуже мало (менше 0,30 мг/100 г) накопичують гарбуз (насіння), кавун, крес–салат, огірок, ревінь, редька, цибуля (листки), щавель [21].

Невелику кількість (від 0,31 до 0,6 мг/100г) – баклажан, батат, біб овочевий (зелений горошок), буряк столовий, диня, капуста білоголова, червоноголова, пекінська і цвітна, квасоля спаржева, кріп, селера (листки), хрін, цибуля ріпчаста (цибулини), цибуля–порей (відбілена ніжка), цибуля, черемша [21].

Середню кількість (від 0,61 до 0,90 мг/100 г) – бруква, капуста брюссельська, кольрабі, перець солодкий в технічній стиглості, петрушка (листки), ріпа, салат–латук, селера (коренеплід), шпинат [21].

Багато (понад 0,91 мг/100 г) – горох овочевий зелений горошок – 2,0 мг/100 г, картопля 0,9–1,3 мг/100 г, морква 1,0–1,5 мг/100 г, перець солодкий у біологічній стиглості 1,0 мг/100 г, петрушка коренеплід 1,0 мг/100 г, часник 1,0–1,2 мг/100 г [21].

Вітамін РР стійкий у зовнішньому середовищі. Витримує нагрівання, варіння в кислому та лужному середовищі, сушіння та тривале зберігання як на сонці, так і в темряві. Тому, наприклад, при сушінні цибулі його вміст навіть зростає з 0,2–0,7 до 1,3, а моркви з 0–1,5 до 2,6 мг/100 г. Добре зберігається в заморожених овочах. Теплова обробка овочів зменшує його вміст лише на 15–20% [21].

Важливе значення цінності овочів за вмістом нікотинової кислоти має не тільки її кількість, але й біологічна форма – легкодоступної чи недоступної. Наприклад, у бобових цей вітамін легкодоступний, а в зернових важкодоступний. У різних різновидах кукурудзи, в тому числі і в цукровій, нікотинової кислоти не тільки мало, але вона ще й недоступна для організму. Завдяки такому „невдалому“ поєднанню властивостей, американцям вдалося відкрити цей вітамін. Необов'язково, щоб цей вітамін постійно надходив із продуктами харчування. В організмі нікотинова кислота утворюється з амінокислоти триптофана, який міститься в тваринних білках [21].

Антивітамінами РР є деякі лікарські препарати – антибіотики, сульфаніламід, фтивазид, тубазид, циклосерил. Антивітамінною активністю щодо нікотинової кислоти характеризуються перекисні сполуки, які утворюються при псуванні тваринних жирів та олій. Тому ніколи не заправляйте овочеві салати прогіркою олією! В цукровій кукурудзі, крім низького вмісту вітаміну РР та амінокислоти триптофана, ще й знайдено сильний антивітамін індол-3-оцтова кислота. Тому й не дивно, що кукурудзу потрібно їсти з іншими продуктами, багатими на вітамін РР і триптофан [21].

Вміст вітаміну РР у харчових продуктах та рослинах

Продукт	Вміст вітаміну, мг / 100г
Дріжджі сухі	40
Сушені гриби	14,1
Куряча грудка	13,7
Вівсянка	13,6
Тунець	11,9
Лосось	8,2
Гречка	7,0
Лимон	2,0
Мед	1,85

Продуценти ніацину

Продуценти ніацину

Бактерії	Дріжджі	Гриби	Макроскопічні водорості
<i>Enterbacter</i>	<i>Endomyces vernalis</i>	<i>Eremothecium ashbyi</i>	<i>Hormidium borlowi</i>
<i>E.coli</i>	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Ashbya gossypii</i>	<i>Hormidium flaccidum</i>
<i>Erwinia</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	макроскопічний гриб <i>Agaricusbisporus</i>	<i>Hormidium stoechidium</i>
<i>Serratia</i>	<i>Willia anomala</i>	<i>Candida tropicalis</i>	
<i>Providencia</i>	<i>Saccharomyces carlsbergensis</i>	<i>Candida guilliermondii</i>	
<i>Corynebacterium</i>	<i>Saccharomyces vini</i>	<i>Candida famata</i>	
<i>Brevibacterium ammoniagenes</i>	<i>Pichia</i>	<i>Aspergillus niger</i>	
<i>Actinomyces</i>		<i>Aspergillus oryzae</i>	
<i>Bacillus subtilis</i>			

Штам соматичних структур макроскопічного гриба *Agaricus bisporus* є продуцентом вітаміну РР.

При культивуванні штаму на твердих і рідких поживних середовищах продуцент накопичують біомасу до 27,3 г / л, вітаміни С, РР і групи В. На основі штаму готують кормову добавку для сільськогосподарських тварин і

птахів. Так само продуцентами є *Saccharomyces carlsbergensis*, *Brevibacterium ammoniagenes*. Їх продуктивність 750 мг/л, 6 г/л.

Продуцентами вітаміну РР (В₃), коензиму – КоА є *E.coli*, *Actinomyces*, *Brevibacterium ammoniagenes*. Продуктивність 130 мг/л КоА, 2,5 г/л КоА. Зазвичай культивують на поживних крохмальних середовищах.

1.3. Технології виготовлення квасу

До слабоалкогольних напоїв відносяться хлібний квас, плодово–ягідні кваси, медові напої, морси, брага тощо. Вони виготовляються шляхом збродження сусла, яке отримується із різної сировини [22].

Хлібний квас є продуктом неповного збродження дріжджами і молочнокислими бактеріями сусла з солоджених і несолоджених зернових продуктів і цукру [22].

Характеристика квасу

Квас – це традиційний слов'янський напій отриманий способом «живого» бродіння. Квас виготовляють переважно з житнього борошна або житнього хліба і солоду [23].

Об'ємна частка етилового спирту у квасі становить $\leq 1,2\%$.

У квасі містяться вуглеводи, білки, вітаміни групи В, сполуки кальцію, марганцю, фосфору та магнію, які легко засвоюються організмом людини. Напій тамує спрагу і стимулює секрецію травних залоз, тим самим сприяючи підвищенню апетиту і кращому засвоєнню їжі [23].

Також існують різновиди квасу: щавлевий, суничний, журавлинний, смородиновий, грушевий, яблучний, малиновий, буряковий, ревеневий, морквяний [23].

Енергетична цінність(100 г): 20–35 ккал (88–100 кДж)

Харчова цінність(100 г):

- білки – 0,2 г

- жири – 0 г
- вуглеводи – 5,2 г

Біохімічний склад квасу :

- амінокислоти, в тому числі 8 незамінних (валін, лейцин, фенілаланін, метіонін, триптофан, лізин, треонін);
- продукти реакції цукрів з амінокислотами і білками – меланоїдіни (азотовмісні фарбувальні речовини);
- інші продукти життєдіяльності мікроорганізмів: молочна кислота 0,2–0,6%, мінеральні речовини 0,1–0,4%, вуглекислота 0,03–0,4%.

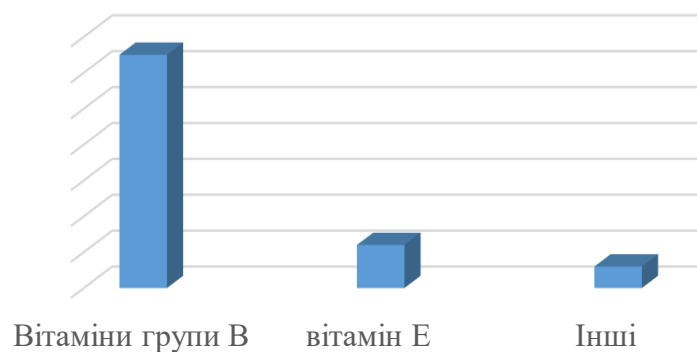


Рис 1.6. Вітамінний склад квасу

Вміст вітамінів в квасі:

- вітаміни групи В – 7 % (вітамін С – 2,7 %, вітамін Н – 0,8 %);
- вітамін Е – 1,2 %
- інші вітаміни – 0,6 %

Принцип технології квасного виробництва

До напоїв на зерновій сировині і напоїв шумування відносять квас, отриманий бродінням, і кваси пляшкового розливу, які виробляються за технологією газованих безалкогольних напоїв [24].

Основна сировина для квасів шумування – концентрат квасного суслу (ККС), цукор, вода [24].

Концентрат квасного сусла (ГОСТ 28538–90) – продукт, одержаний шляхом затирання з водою житнього та ячмінного солодів, житнього або кукурудзяної муки, або ферментованого житнього солоду з додаванням житнього борошна і ферментних препаратів, з подальшим висвітленням, згущенням отриманого сусла в вакуум-апараті і тепловою обробкою продукту. Використовується також для приготування концентратів квасів. За зовнішнім виглядом – це в'язка густа рідина темно-коричневого кольору, кисло-солодкого смаку, з незначно вираженою гіркотою, з ароматом житнього хліба, добре розчинна у воді, що має масову частку сухих речовин $70 + 2\%$ і титруючу кислотність $16 + 4,0$ см³ розчину NaOH концентрацією 1,0 моль / дм³ на 100 г концентрату [24].

На невеликих виробництвах в якості сировини застосовують квасні житні хлібці або сухий квас [24].

Квасні житні хлібці (ОСТ 18–1999) використовуються при виробництві хлібного квасу з застосуванням способу настоювання у отримання сусла. Випікають квасні хлібці з суміші житнього і ячмінного солоду, житнього борошна, води, без дріжджів і закваски. Смак кисло-солодкий, характерний для житнього хліба, без гірко-присмаку, з різко вираженим ароматом, без ознак затхлості, плісняві та інших сторонніх запахів. Колір – темно-коричневий. Масова частка вологи – 40%, а розчинних у воді речовин – 52,0%. Випікають хлібці за спеціальною технологією, що забезпечує інтенсивне накопичення меланоїдинів, які надають хлібці темно-коричневий колір і аромат житнього хліба [24].

Квас сухий хлібний (ГОСТ 365) – напівфабрикат для приготування хлібного квасу в домашніх умовах і для промислового виробництва квасу способом настоювання. Отримують його з сухарів спеціально випеченого хліба. За зовнішнім виглядом – сухарна борошно грубого помелу з характерним для житнього заварного хліба смаком, коричневого кольору з червонуватим відтінком, різко вираженим ароматом, без ознак затхлості, плісняві та інших

сторонніх запахів, з масовою часткою вологи 10%; масовою часткою розчинних у воді речовин не менше 49% [24].

Для виробництва пляшкових квасів випускають концентрати Російського і Московського квасу (ГОСТ 28538). За зовнішнім виглядом це непрозора в'язка густа рідина від світло-коричневого до темно-коричневого кольору, кислувато-солодкого, хлібного смаку, з масовою часткою сухих речовин $70 \pm 2\%$ [24].

Основні стадії виробництва квасу:

- отримання квасного сусла;
- зброджування квасного сусла;
- купажування квасу;
- розлив квасу.

На заводах квасне сусло отримують способом настоювання з квасних житніх хлібців або з сухого, квасу шляхом екстрагування гарячою водою або з концентрату квасного сусла розчиненням до необхідної масової частки сухих речовин [24].

При приготуванні квасного сусла з концентрату квасного сусла його вносять у кількості 70% від передбаченого рецептурою, розводять водою з температурою 30–35 ° С в 2–2,5 рази. Решта 30% ККС застосовують на стадії купажування квасу [24].

Зброджують квасне сусло за допомогою комбінованої закваски, яка складається з квасних дріжджів раси М і молочнокислих бактерій рас 11 і 13 в бродильному або бродильно – купажних апаратах. Після перекачування сусла в бродильний апарат, в нього задають 25% цукру (від рецептурного кількості) у вигляді цукрового сиропу при температурі 25 ° С і ретельно перемішують. Масова частка сухих речовин у суслі для хлібного квасу повинна бути не менше 2,5%, а для окрошки – 1,6%. Потім вводять попередньо підготовлену комбіновану закваску з чистих культурних квасних дріжджів і молочнокислих бактерій в кількості 2 – 4% до обсягу сусла [24].

Дріжджі і молочнокислі бактерії при спільній дії утворюють етиловий спирт, молочну та оцтову кислоти, CO_2 , ряд ароматичних продуктів, які надають квасу специфічний смак і аромат [24].

Для бродіння можна також використовувати пресовані хлібопекарські дріжджі, проте якість квасу погіршується. Їх витрата 0,15 кг / 100 дав квасу. Застосовують також пивні, винні дріжджі [24].

Бродіння квасного сусла проводять при температурі 25–28 °С до зниження масової частки сухих речовин на 1,0% і досягнення кислотності 2,0–2,5 см³розчину NaOH концентрацією 1 моль / дм³ на 100 см³ квасу. Середня тривалість 16–18 годин. Після закінчення бродіння квас охолоджують до 6 °С, при цьому дріжджі осідають на дно апарату, повторно їх не використовують [24].

При купажуванні квасу додають 75% цукру, що залишилися в вигляді цукрового сиропу, 30 % ККС і при необхідності. Купаж ретельно перемішують мішалкою або діоксидом вуглецю для зменшення втрат CO_2 . Після перевірки основних показників передають на розлив [24].

При виробництві хлібного квасу у квас при купажуванні вносять розрахункову кількість аскорбінової кислоти, хлориду кальцію, калію фосфорнокислого і кухонної солі у вигляді водних розчинів. Розливають квас в автоцистерни і бочки. Температура квасу при розливі не повинна перевищувати 12 °С [24].

1.3.1. Сучасні технології виготовлення квасу

Квас в промислових умовах виробляється з концентрату квасного сусла. ККС одержується затиранням з водою житнього і ячмінного солоду, житнього або кукурудзяного борошна, оцукрюванням, освітленням, згущенням сусла у вакуум – апаратах [25].

Концентрат квасного сусла подають у бродильний чан, додають 25 % цукрового сиропу, закваску чистих культур дріжджів і молочнокислих

бактерій. Бродіння відбувається при $t = 28 - 30 \text{ }^\circ\text{C}$ 12 годин (Рис. 1.7.). Дріжджі і бактерії потім відокремлюють декантацією (зсіданням). Молодий квас купажують додаванням 75 % цукрового сиропу, охолоджують до $10 - 12 \text{ }^\circ\text{C}$ і розливають [25].

Готовий квас непрозорий, має коричневий колір з червонуватим відтінком, кислуватий освіжаючий смак з ароматом житнього хліба [25].

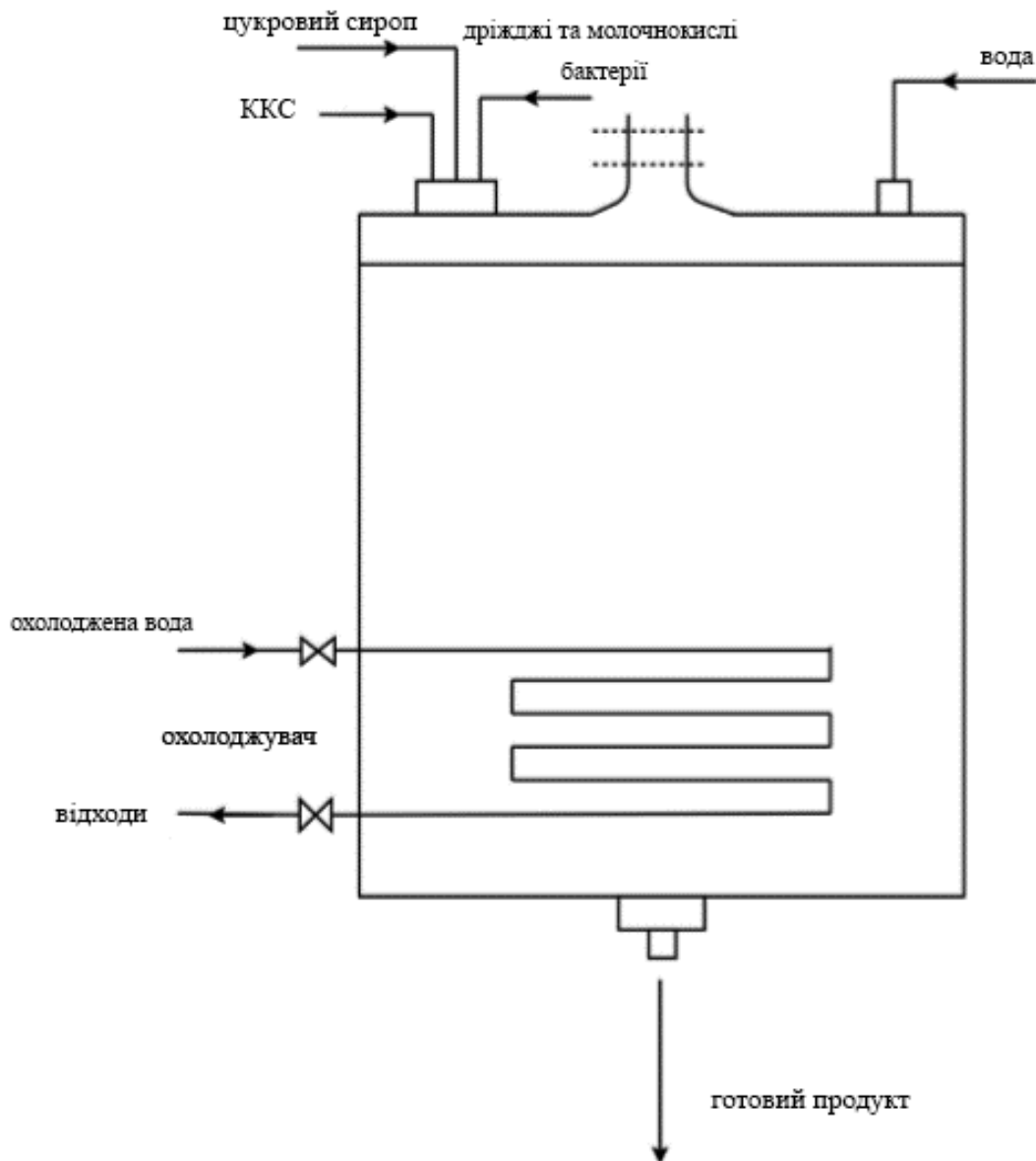


Рис. 1.7. Апаратно-технологічна схема виробництва квасу у бродильних чанах

Квас може бути приготований у вигляді газованого напою, коли після розливу в пляшки відбувається додаткове бродіння протягом 40 годин при $t = 17 \text{ }^\circ\text{C}$ і насичення двооксидом вуглецю, ароматичними і смаковими речовинами [25].

Способи купажування квасу:

- холодний;
- напівгарячий;
- гарячий.

Холодний спосіб дозволяє зберегти аромат і колір вихідної сировини.

Напівгарячий і гарячий способи застосовують тоді, коли необхідно зменшити об'єм (випарити) купаж [25].

1.3.2. Технологічний процес виробництва квасу

Технологічний процес виробництва квасного бродіння складається з наступних етапів [26]:

- вирощування культур мікроорганізмів,
- приготування цукрового сиропу та квасного сусла,
- бродіння сусла,
- змішування та купажування квасу.

Процес виробництва квасу оснований на бродінні квасного сусла (ККС). Відома кількість ККС розбавляється водою в пристрої для попереднього розведення, який обладнаний мішалкою і паровою сорочкою (Рис. 1.8.). Отриманий розчин пастеризують для підвищення міцності та мікробіологічної чистоти квасу. Розведене ККС пастеризують в пластинчастих пастеризаційно – охолоджувальних установках. Потім розчин ККС розбавляють холодною питною водою до вмісту твердих речовин 1,6 – 2 % і перемішують, після чого готують основне квасне сусло з концентрацією 2,8 – 3,2 %. З цією метою до розчину додається розрахована кількість цукрового сиропу (25% від загальної кількості). Далі квасне сусло змішують і відправляють на аналіз в лабораторію. Після випробування сусло можна використовувати [26].

Основне квасне сусло готують у ферментаційно – змішувальних циліндрично – конічних апаратах, а також у спеціальних ферментаційних апаратах. Перевага віддається першим двом пристроям, оскільки вони

полегшують підтримку технологічного процесу і роблять його більш економічним. У цьому апараті, оснащеному системою охолодження, дріжджові та молочнокислі бактерії вводять у сусло, що ферментується, вміст твердих речовин доводять до 1,8 – 2,2 %, а кислотність не нижче 2 мл 1N розчин луку на 100 см³ квасу [27].

З ферментованого та охолодженого до температури 2 – 7 °С ККС шляхом осадження видаляють густий осад із дріжджів та частково молочнокислих бактерій, після чого переходять до змішування квасу. Якщо сусло ферментується у ферментері, ККС після охолодження суслу та осадження осаду акуратно закачується в апарат для змішування. У бродильному апараті змішування квасу не допускається [27].

Для змішування хлібного квасу в збродженому суслі вводиться та переміщується залишок розрахованої кількості сиропу білого цукру (75%) із вмістом сухих речовин 60 – 65 % [27].

Тоді необхідно перевірити органолептичні властивості продукту. Готову охолоджену суміш направляють на розлив [27].

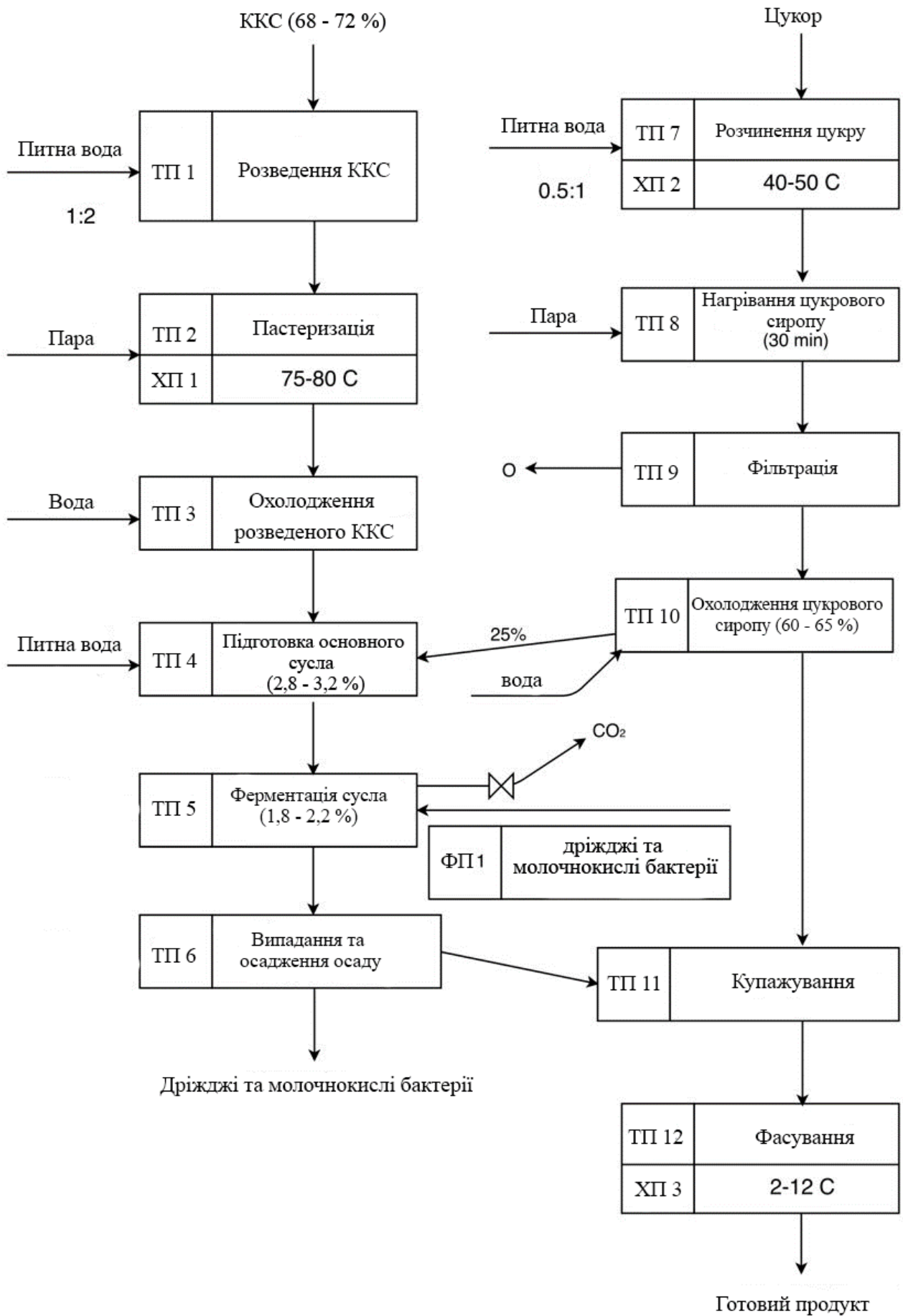


Рис. 1.8. Технологічна схема виробництва квасу

1.4. Висновки до розділу

Квас - дуже корисний напій. У ньому містяться вуглеводи, білки, вітаміни групи В, Н, Е та вітамін С, сполуки кальцію, марганцю, фосфору та магнію, які легко засвоюються організмом людини [1]. Цей напій тамує спрагу і стимулює секрецію травних залоз, тим самим сприяючи підвищенню апетиту і кращому засвоєнню їжі [2]. Квас має досить довгий термін зберігання та стійкість до різного роду кліматичних та механічних впливів, за правильного зберігання [1].

Вітамін С не синтезується в організмі людини, але необхідний для його нормально функціонування [9]. Він відіграє важливу роль в окисно-відновних процесах, бере участь в обміні фолієвої кислоти та заліза, регулює зсідання крові, нормалізує проникність капілярів [6].

В організмі людини ніотинова кислота (ніацин, вітамін РР, вітамін В₃) перетворюється в нікотинамід, який зв'язується з коензимами кодегідрогенази I і II (НАД⁺ і НАДФ⁺), які переносять водень, бере участь в метаболізмі жирів, протеїнів, амінокислот, пуринів, тканинному диханні, глікогенолізі, синтетичних процесах.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Об'єкт дослідження

ДР 1. Підготовка поживного середовища. За використаною технологією до складу поживного середовища входить: нарізаний лимон без цедри та рідких мед, завчасно розтоплений на водяній бані. Оптимальна температура компонентів поживного середовища 23 – 25 °С.

ДР 2. Підготовка інокулянту. У ємність для бродіння вносять рідкий мед, нарізаний лимон та воду [30]. Вводять попередньо підготовлений інокулянт. Оптимальна температура інокулянту 24 – 27 °С.



Рис 2.1. Технологічна схема виробництва квасу за розробленою технологією

ТП 1. Бродіння. Процес виробництва квасу оснований на бродінні. У процесі бродіння відбувається накопичення CO₂. В якості показника бродіння використовують миті родзинки. Протягом 72 годин відбувається насичення родзинок вуглекислим газом – це є основним показником завершення процесу бродіння.

ТП 2. Відокремлення культуральної рідини від біомаси. Відбувається процес утворення та осадження осаду (компоненти поживного середовища та інокулянт), який буде вилучений шляхом фільтрації.

ТП 3. Фільтрація. З ферментованого та охолодженого до температури 2 – 7 °С квасу, шляхом осадження видаляють густий осад із інокулянту та компонентів поживного середовища.

ТП 4. Фасування. Температура квасу при розливі не повинна перевищувати 12 °С.

2.2. Методи дослідження

На сьогодні існує 2 загальноживаних методи точного кількісного визначення вітаміну С – йодометричний метод та спектрофотометричний метод визначення [37].

2.2.1. Йодометричний метод визначення вітаміну С

Реактиви:

- розчин йоду 0,125%. 1 мл цього розчину становить 0,875 мг аскорбінової кислоти;
- розчин колоїдного крохмалю. 1 г крохмалю розвести в невеликій кількості холодної води. Суміш заливають ½ склянки гарячої води. Розчин придатний для використання протягом тижня;
- сірчана кислота 10%. Кислота необхідна для полегшення окислення вітаміну С киснем з повітря;
- бідистилят (ddH₂O).

Обладнання: хімічний стакан, конічна колба об'ємом 50 і 100 мл, лабораторна підставка, бюретка для титрування, лійка, гирі, циліндр, фільтрувальний папір.

Етапи виконання:

Приготування розчину йоду 0,125%. До 1 мл аптечної настоянки йоду додати 39 мл ddH₂O.

Приготування 1% крохмальної пасти. 1,25 г крохмалю, спочатку розчинити в 25 мл холодної води, потім додати 100 мл гарячої води.

Вихідний стандарт: у пробірку додають 10 мг аскорбінової кислоти і доводять до об'єму 10 мл 10% HCl.

Вміст аскорбінової кислоти у вихідному стандарті становить 1 мг / мл.

Робочий стандарт: 1 мл розчину аскорбінової кислоти, що містить 1 мг / мл, додають до 50 мл 10% HCl і до 100 мл ddH₂O.

Вміст аскорбінової кислоти становить 10 мкг / мл.

Фільтрування квасу.

Відміряти 20 мл відфільтрованого квасу, додати 1 мл 10% HCl і 2 мл крохмальної пасти.

Проводять титрування йодною настоянкою, ретельно перемішуючи. Крапля йоду пофарбує розчин в синій колір і він не зникне протягом 2 – 3 хвилин.

Обчислення кількості вітаміну С. Кількість вітаміну С у зразку (мг) обчислюється за формулою:

$$m_{\text{vitC}} = V \times 0,875$$

де, m – маса вітаміну С;

V – об'єм розчину, витраченого на титрування.

Похибка методу до 20%.

2.2.2. Спектрофотометричний метод визначення вітаміну С

Метод заснований на визначенні вмісту вітаміну С у досліджуваному продукті, за допомогою метафосфорної кислоти та спектрофотометричному визначенні вітаміну С, забарвленні натрієвої солі

2,6 – дихлорфеноліндофенолу при рН = 3 – 4,5 за наявності бікарбонату парахлормеркурібензоату для виключення впливу відновлюючих речовин [38].

Реактиви:

- 10% метафосфорної кислоти;
- 5% метафосфорної кислоти;
- ddH₂O;
- цитратно–ацетатний буфер (Na–лимонна кислота, оцтова кислота, хлормеркурій бікарбонат);
- 2,6 – дихлорфеноліндофенол;
- аскорбінова кислота.

Обладнання: хімічне скло, конічна колба на 600 і 100 мл, піпетки, ваги, фільтрувальний папір, пробірки для центрифуги, центрифуга, рН–метр, фотоелектроколориметр.

Етапи виконання:

Приготування 10% метафосфорної кислоти. 10 мл 100% метафосфорної кислоти наливають у мірну колбу (V = 100 мл) і об'єм доводять до 100 мл за допомогою ddH₂O.

Приготування 5% метафосфорної кислоти. 30 мл 100% метафосфорної кислоти наливають у мірну колбу (V = 600 мл) і доводять до 600 мл за допомогою ddH₂O.

Фільтрація квасу.

У 20 мл відфільтрованого квасу додають 30 мл 10% метафосфорної кислоти (цей розчин умовно називатиме Р1).

1 мл Р1 виливають у мірну колбу (V = 100 мл) і доводять до 100 мл 5% метафосфорною кислотою (отриманий розчин умовно називають Р2).

Приготування цитратно–ацетатний буфер. 22 г Na–лимонної кислоти розвести в 40 мл ddH₂O і додати 200 мг парахлормеркурібензоату. Виміряти рН і довести до позначки 4,15 за допомогою льодової оцтової кислоти.

0,6 мл Р2 перенести у 2 пробірки для центрифугування, додати 0,3 мл цитратно–ацетатного буфера (отриманий розчин називають супернатантом 2).

Пробірки струшують і центрифугують протягом 30 хвилин при 3 000 об / хв (отриманий розчин умовно називатиме РЗ).

До відцентрифугованого РЗ додають 0,3 мл розчину 2,6–дихлорфеноліндофенолу та декілька кристалів аскорбінової кислоти. Через 30 секунд провести вимірювання на фотоелектроколориметрі на довжині хвилі 520 нм (проти H₂O).

Обчислення кількості вітаміну С. Кількість вітаміну С у зразку (мг) обчислюється за формулою:

$$m_{\text{vit C}} = E \times 1,3$$

де $m_{\text{vit C}}$ – маса вітаміну С;

E – поглинання при довжині хвилі 520 нм;

При калібрувальній кривій стандартного вітаміну С при 520 нм (Рис. 2.6.)

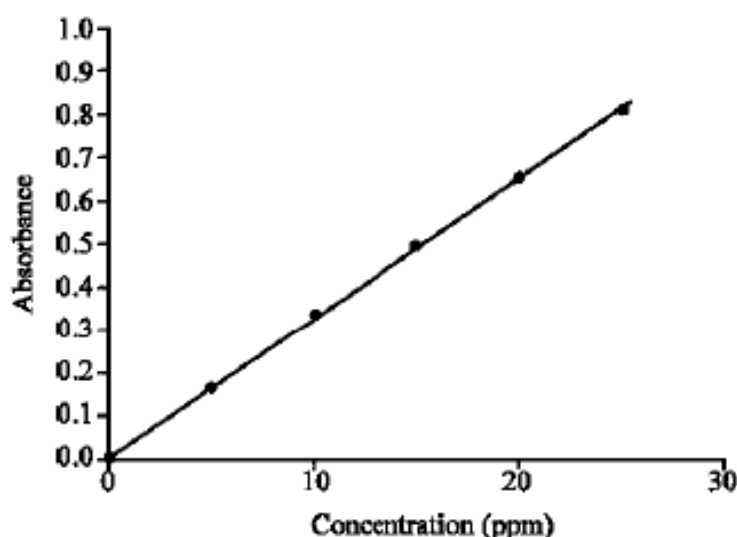


Рис. 2.2. Калібрувальна крива стандартного вітаміну С при 520 нм

2.2.3. Кількісне визначення ніацину

Принцип методу базується на вивільненні зв'язаних форм нікотинової кислоти гідролізом, очищенні отриманого гідролізату, колоїдному отриманні фарбованого вихідного глютаконового альдегіду і колориметричному визначенні його маси в порівнянні з стандартним розчином.

Реактиви:

- стандартний розчин нікотиновї кислоти;
- 2N H₂SO₄;
- Ca(OH)₂;
- 0,5N HCL;
- 4N NaOH;
- 10% KCNS (роданистий калій);
- 80% ZnSO₄;
- 1% розчин фенолфталеїну;
- метол;
- бром;
- Універсальний індикатор;
- CaCO₃.

Етапи виконання:

- при визначенні ніацину в м'ясі, рибі, стравах з сиру, молока застосовується гідроліз з 2N сірчаною кислотою;
- при аналізі хлібобулочних виробів, круп, ягід краще використовувати метод гідролізу з Ca(OH)₂(даний метод був використаний у ході проведення експерименту).

5–10 г подрібненої проби розтирають у ступці з 1,5 г Ca(OH)₂ додають 40 мл dH₂O, ставлять на водяну баню на 90 хв. Після цього проби охолоджують і доводять обсяг до 50 мл (V₀).

Гідролізат фільтрують. До 25 – 30 мл (V₁) фільтрату додають 1 краплю 1% фенолфталеїну (р–р рожевий) і далі по краплях 5N HCl до знебарвлення.

Якщо гідроліз з сірчаною кислотою, то фільтрат спочатку нейтралізують 10N основою, а потім 5N HCl до знебарвлення.

В кожену колбу додають по 2 мл 80% сірчаноокислого цинку, далі по краплях 4N NaOH до рожевого фарбування добре помішуючи. Фарбування видаляють кількома краплями 5N сірчаною кислотою. Отриманий розчин залишають на 10 хв, періодично помішуючи, потім додають 1–2 краплі спирту

для усунення піни та доводять обсяг до 50 мл (V_2). Перемішують і фільтрують через складчастий фільтр.

За необхідності на цьому етапі аналіз можна перервати на 3–5 діб, зберігаючи фільтрат у холодильнику.

Проведення кольорової реакції

Для проведення кольорової реакції використовують 8 пробірок. В 3 пробірки поміщають по 5 мл робочого стандартного НК, в 4 пробірки наливають по 5 мл отриманого фільтрату (V_3), в іншу 5 мл води (сліпа проба). Всі пробірки закривають пробками і поміщають на водяну баню при 50 °C на 5 хвилин.

Потім в пробірки зі стандартним розчином і в пробірку з водою і в 2 пробірки з фільтратом додають по 2 мл роданбромідного розчину. В 2 інші пробірки з досліджуваним розчином додають по 2 мл води (сліпа проба на присутність в розчині офарблених речовин).

Всі пробірки поміщають на водяну баню при 50 ° C на 10 хвилин. Пробірки виймають, охолоджують під струменем води до кімнатної температури, і ставлять на 10 хвилин в темне місце. Потім в кожен пробірку доливають по 3 мл розчину метола, струшують і залишають на 1 годину в темному місці при кімнатній температурі.

Вимірювання оптичної щільності

Оптичну щільність вимірюють по відношенню до dH_2O на спектрофотометрі, довжина хвилі 400 нм або фотоелектроколориметрі при довжин хвилі 400–425 нм.

Обробка результатів

Розрахунок результатів ведуть за формулою:

$$x = \frac{(A-A_1) \cdot V_0 \cdot V_2 \cdot n \cdot 100}{(B-B_1) \cdot V_1 \cdot V_3 \cdot g \cdot 1000} \text{ мг/\%}$$

A – величина оптичної щільності досліджуваного розчину

A_1 – величина оптичної щільності для сліпих поправок на фарбування, інертні і амінореагуючі речовини

B – величина оптичної щільності стандартного розчину НК

V_1 – величина оптичної щільності для сліпої поправки на реагент
 V_0 – обсяг гідролізату
 V_1 – кількість гідролізату, взятого для очищення сірчаноокислим цинком
 V_2 – об'єм гідролізату після очищення сірчаноокислим цинком
 V_3 – об'єм розчину, взятого для проведення кольорової реакції
 n – вміст НК в 5 мл стандартного розчину в мкг/г
 g – наважка взятого зразка.

2.3. Опис матеріалів, необхідних для дослідження

Мед і лимон збагачені вітаміном С, який добре впливає на роботу людського організму [31]. Було розроблено 4 методи виробництва лимонно – медового квасу з використанням різних бродильних компонентів.

Медово – лимонний квас виготовлений з використанням дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*

Інгредієнти:

- вода – 700 мл;
- мед – 150 грам;
- дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* – 5 г;
- лимон – 22 г;
- попередньо вимиті родзинки – 5 штук.

Спосіб виготовлення:

У ємність для бродіння (у нашому випадку пляшку на 1 літр) додають 150 грам рідкого меду (попередньо розтопленого на водяній бані), 22 г нарізаного лимона без цедри та 700 мл води.

У теплій кип'яченій воді (не більше 35 °С) розчинити 5 г дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* (Рис. 2.2.), отриману суміш додати в пляшку.

Попередньо промиті родзинки додати у пляшку (вони служать індикатором бродіння), щільно закрутити і поставити в темне місце.



Рис. 2.3. Процес виробництва медово – лимонного квасу з використанням дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*

Таким чином, для цього виду квасу використовують хлібопекарські дріжджі *Saccharomyces cerevisiae*, які зазвичай використовують у спиртовому бродінні, та у класичній технології виготовлення квасу [32].

Медово – лимонний квас виготовлений з використанням мікробної асоціації, виділеної з родзинок *Vitis vinifera*

Інгредієнти:

- вода – 700 мл;
- мед – 150 грам;
- немиті родзинки *Vitis vinifera* – 10 г;
- лимон – 22 г;
- попередньо вимиті родзинки – 5 штук.

Спосіб виготовлення:

У ємність для бродіння (у нашому випадку пляшку на 1 літр) додають 150 грам рідкого меду (попередньо розтопленого на водяній бані), 22 г нарізаного лимона без цедри та 700 мл води.

У якості бродильного компоненту, додають 10 г немитих родзинок (Рис. 2.3.), отриману суміш фасують в пляшку.

Попередньо промиті родзинки додати у пляшку (вони служать індикатором бродіння), щільно закрутити і поставити в темне місце.



Рис. 2.4. Процес виробництва медово – лимонного квасу з використанням мікробної асоціації, виділеної з родзинок *Vitis vinifera*

Таким чином, була проведена ідентифікація асоціації мікроорганізмів на поверхні родзинок. Було ідентифіковано *Saccharomyces vini* та *Pichia* (активний продуцент ніацину). *Saccharomyces vini* є активним продуцентом аскорбінової кислоти та ніацину.

Медово – лимонний квас виготовлений з використанням мікробної асоціації, виділеної з зерен не шліфованого рису *Oryza sativa*

Інгредієнти:

- вода – 700 мл;
- мед – 150 грам;
- зерна не шліфованого рису – 3г;
- лимон – 22 г;
- попередньо вимиті родзинки – 5 штук.

Спосіб виготовлення:

У ємність для бродіння (у нашому випадку пляшку на 1 літр) додають 150 грам рідкого меду (попередньо розтопленого на водяній бані), 22 г нарізаного лимона без цедри та 700 мл води.

У якості бродильного компоненту, додають 3 г зерен не шліфованого рису *Oryza sativa* (Рис. 2.4.), отриману суміш фасують в пляшку.

Попередньо промиті родзинки додати у пляшку (вони служать індикатором бродіння), щільно закрутити і поставити в темне місце.

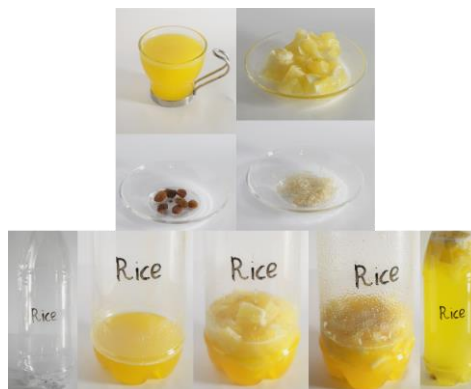


Рис. 2.5. Процес виробництва медово – лимонного квасу з використанням мікробної асоціації, виділеної з зерен не шліфованого рису *Oryza sativa*

Таким чином, була проведена ідентифікація асоціації мікроорганізмів на поверхні зерен не шліфованого рису. Ідентифіковано *Erwinia* (продуцент ніацину та аскорбінової кислоти) – рід бактерій родини *Enterobacteriaceae*.

Медово – лимонний квас виготовлений з використанням бактеріальної закваски «VIVO»

Інгредієнти:

- вода – 700 мл;
- мед – 150 грам;
- бактеріальна закваска «VIVO» – 2,5 г;
- лимон – 22 г;
- попередньо вимиті родзинки – 5 штук.

Спосіб виготовлення:

У ємність для бродіння (у нашому випадку пляшку на 1 літр) додають 150 грам рідкого меду (попередньо розтопленого на водяній бані), 22 г нарізаного лимона без цедри та 700 мл води.

У якості бродильного компоненту, додають 2,5 г бактеріальної закваски «VIVO» (Рис. 2.5.), отриману суміш фасують в пляшку.

Попередньо промиті родзинки додати у пляшку (вони служать індикатором бродіння), щільно закрутити і поставити в темне місце.

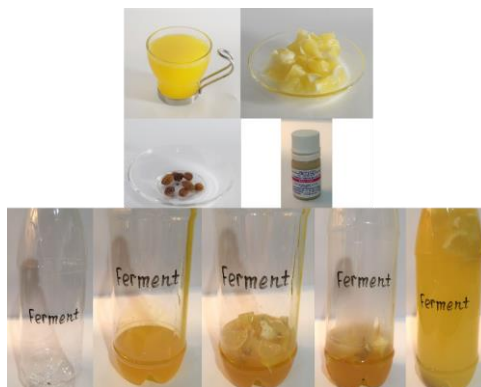


Рис. 2.6. Процес виробництва медово – лимонного квасу з використанням бактеріальної закваски «VIVO»

2.4. Виділення асоціації мікроорганізмів

Для виділення мікробної асоціації з зерен не шліфованого рису та родзинок, був проведений мікробіологічний посів на 5 типів поживних середовищ: глюкозо – пептонне середовище, МПА, середовище Сабуро, середовище Гісса з лактозою та середовища Чапека з сахарозою.

Глюкозо – пептонне середовище

Рідке поживне середовище для накопичення ентеробактерій. Базою для зростання бактерій, забезпечуючи їх усіма необхідними речовинами, в якості джерела вуглецю є глюкоза, що дозволяє накопичувати широкий спектр мікроорганізмів.

Їх розвиток крім помутніння також легко виявити за зміною кольору середовища, а застосувавши скляний "поплавок" виявити утворення газу.

Реактиви:

- 200 мл води
- 1 г глюкози
- 20 г пептона
- 1 г NaCl

Етапи виконання:

До 200 мл води додають 1 г глюкози, 20 г пептона і 1 г хлористого натрію. Розливають у пробірки з поплавками чи грудочками вати і стерилізують при 120°C 10 хв, рН 7,0 – 7,2.



Рис. 2.7. Приготування глюкозо – пептонного середовища

МПА

М'ясо – пептонний агар (МПА) – поживне тверде середовище загального призначення. Широко застосовується в лабораторній практиці для вирощування мікроорганізмів.

Для приготування використовують сухий агар-агар – полісахарид з низьким вмістом азотистих речовин. Агар-агар має вигляд сірих листовидних пластинок. Видобувається він з морських водоростей – багряннок. Речовина має здатність набухати і розчинятися при нагріванні, а після застигання утворювати щільну драглисту масу.

Використовується для культивування та вивчення культуральних властивостей різних мікроорганізмів.

Реактиви:

- 200 мл МПБ
- 4 г агару
- Na_2CO_3
- лакмусовий папірець

Етапи виконання:

До 200 мл МПБ додають 4 г агару. Середовище нагрівають до розчинення агару.



Рис. 2.8. Приготування МПА

Потім встановлюють слаболужну реакцію середовища 20% розчином Na_2CO_3 і через лійку розливають в колби. Колби закривають і стерилізують.



Рис. 2.9. Слаболужна реакція

Середовище Сабуро

Середовище Сабуро — це середовище (агар Сабуро) використовують з метою встановлення і виділення дріжджів, цвілі та інших патогенних грибів, що можуть існувати в людському організмі. Складається з пептону ферментативного, глюкози і агар – агару.

Реактиви:

- 100 мл dH_2O
- 7,3 г готового середовища

Етапи виконання:

До 100 мл води додають 7,3 г готового поживного середовища. Розливають у чашки Петрі і стерилізують при 120°C 10 хв.

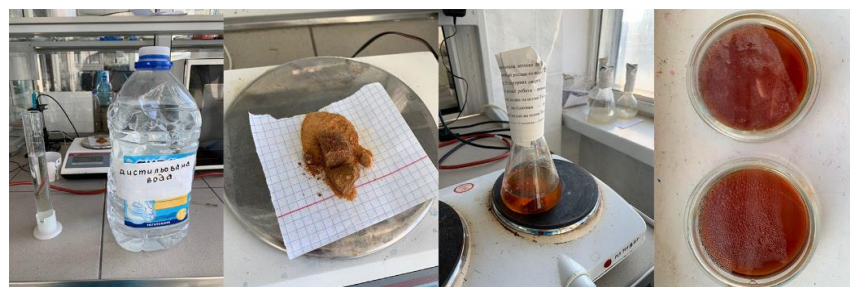


Рис. 2.10. Приготування середовища Сабуро

Середовище Гісса з лактозою

Середовище Гісса використовується для диференціації ентеробактерій.

Реактиви:

- 100 мл dH₂O
- 1,68 г готового середовища

Етапи виконання:

До 100 мл води додають 1,68 г готового поживного середовища.

Розливають у чашки Петрі і стерилізують при 120 ° С 10 хв.



Рис. 2.11. Приготування середовища Гісса з лактозою

Середовище Чапека з сахарозою

Чапека використовується для культивування грибів та дріжджів. Поживна основа середовища складається з мінеральних солей та вуглеводу (глюкози або сахарози). В ньому немає пептону та поживних екстрактів у зв'язку з чим культивування триває протягом 7 - 10 діб (при температурі 25°C). Особливістю даного середовища є повільний ріст мікроорганізмів, завдяки чому зручно спостерігати за процесом розвитку культури, та ізолювати окремі колонії.

Реактиви:

- 100 мл dH₂O
- 4,9 г готового середовища

Етапи виконання:

До 100 мл води додають 4,9 г готового поживного середовища.

Розливають у чашки Петрі і стерилізують при 120 ° С 10 хв.

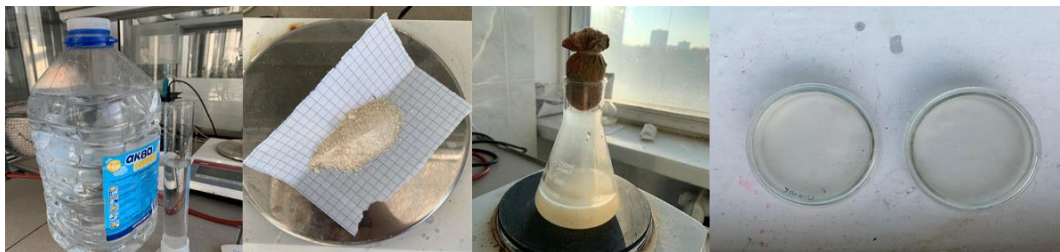


Рис. 2.12. Приготування середовища Чапека з сахарозою

1.4.1. Виділення асоціації мікроорганізмів з родзинок

М'ясо – пептонний агар (МПА) – поживне тверде середовище загального призначення. Використовується для культивування та вивчення культуральних властивостей різних мікроорганізмів.

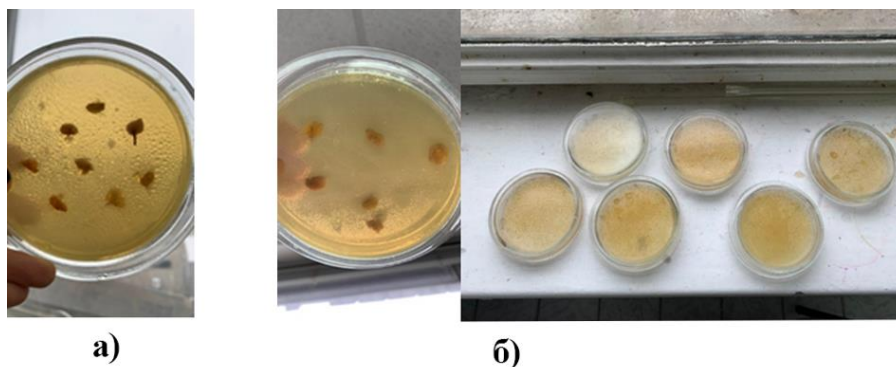


Рис. 2.13. Посів дослідного зразку асоціації мікроорганізмів виділених з родзинок *Vitis vinifera* на середовищі МПА: а) глибинний; б) поверхневий

Середовище Сабуро використовують з метою встановлення і виділення дріжджів, цвілі та інших патогенних грибів.

Середовище Гісса використовується для диференціації ентеробактерій.

Чапека використовується для культивування грибів та дріжджів.

Глюкозо – пептонне середовище – рідке поживне середовище для накопичення ентеробактерій.

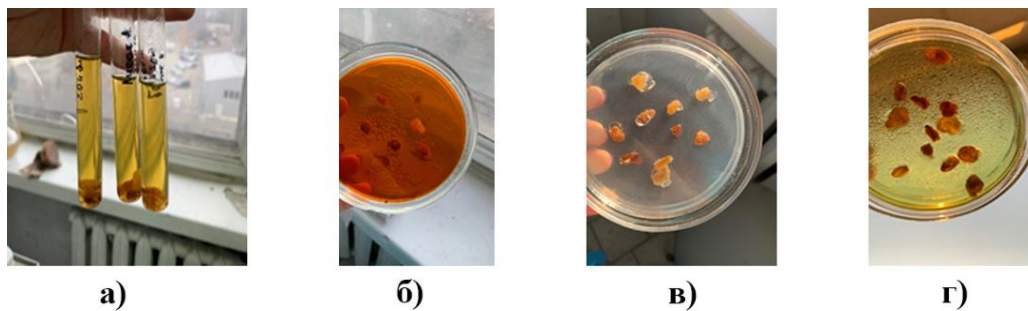


Рис. 2.14. Посів дослідного зразку асоціації мікроорганізмів виділених з родзинок *Vitis vinifera* на: а) глюкозо – пептонному середовищі; б) середовищі Сабуро; в) середовищі Чапека з сахарозою; г) середовищі Гісса з лактозою

2.4.2. Виділення асоціації мікроорганізмів з зерен рису

М'ясо – пептонний агар (МПА) – поживне тверде середовище загального призначення. Використовується для культивування та вивчення культуральних властивостей різних мікроорганізмів.

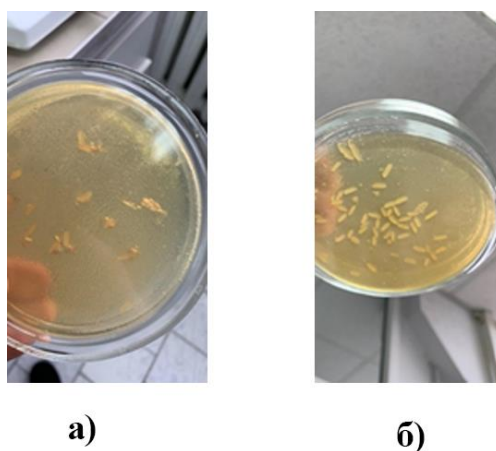


Рис. 2.15. Посів дослідного зразку асоціації мікроорганізмів виділених з зерен не шліфованого рису *Oryza sativa* на середовищі МПА: а) глибинний; б) поверхневий

Середовище Сабуро використовують з метою встановлення і виділення дріжджів, цвілі та інших патогенних грибів.

Середовище Гісса використовується для диференціації ентеробактерій.

Чапека використовується для культивування грибів та дріжджів.

Глюкозо – пептонне середовище – рідке поживне середовище для накопичення ентеробактерій.

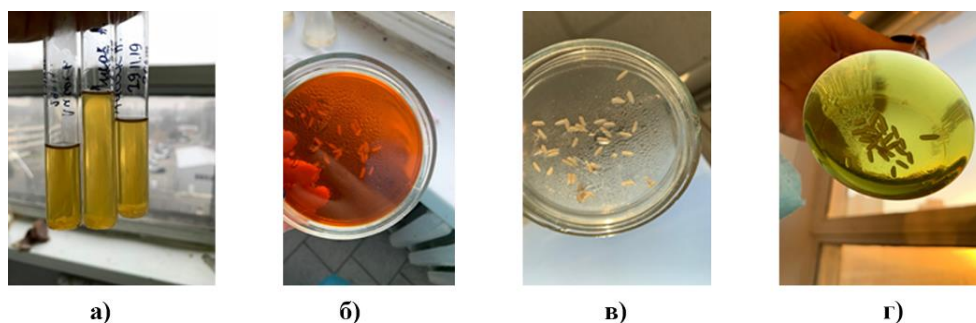


Рис. 2.16. Посів дослідного зразку асоціації мікроорганізмів виділених з зерен не шліфованого рису *Oryza sativa* на: а) глюкозо – пептонному середовищі; б) середовищі Сабуро; в) середовищі Чапека з сахарозою; г) середовищі Гісса з лактозою

2.5. Висновки до розділу

Для виготовлення квасу використовували 4 види асоціації мікрорганізмів: дріжджі *Saccharomyces cerevisiae*, мікробну асоціацію виділену з родзинок *Vitis vinifera*, мікробну асоціацію виділену з зерен *Oryza sativa* та бактеріальну закваску «VIVO».

Для виділення мікробної асоціації з зерен не шліфованого рису *Oryza sativa* та родзинок *Vitis vinifera*, був проведений мікробіологічний посів на 5 типів поживних середовищ: глюкозо – пептонне середовище, МПА, середовище Сабуро, середовище Гісса з лактозою та середовища Чапека з сахарозою.

Одними із найбільш точних методів кількісного визначення вітаміну С є йодометричний та спектрофотометричний методи [17]. Для кількісного визначення ніацину був використаний спектрофотометричний метод Степанова.

РОЗДІЛ 3

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

1.1. Кількісний вміст вітаміну С у квасі

Для визначення кількісного вмісту вітаміну С у квасі, виготовленому за різними технологіями, було використано 2 загальноновживаних методи точного кількісного визначення вітаміну С – йодометричний та спектрофотометричний методи визначення [37].

1.1.1. Результати йодометричного методу визначення вітаміну С

Готують розчин йоду 0,125%. До 1 мл аптечної настоянки йоду додають 39 мл ddH₂O.

Готують 1% крохмальну пасту (Рис. 3.1.). 1,25 г крохмалю, розчиняють в 25 мл холодної води і додають 100 мл гарячої води.



Рис. 3.1. Приготування 1% крохмальної пасти

Стандартний розчин: до пробірки додають 10 мг аскорбінової кислоти і доводять до об'єму 10 мл 10% HCl. Вміст аскорбінової кислоти у вихідному стандарті становить 1 мг/мл. Готують стандартний розчин (Рис. 3.2.).



Рис. 3.2. Приготування стандартного розчину

Робочий стандарт: 1 мл розчину аскорбінової кислоти, що містить 1 мг/мл, додають до 50 мл 10% HCl і до 100 мл ddH₂O. Вміст аскорбінової кислоти становить 10 мкг/мл.

Фільтрація квасу (Рис. 3.3).



Рис. 3.3. Фільтрація квасу

До 20 мл відфільтрованого квасу додають 1 мл 10% HCl і 2 мл крохмальної пасти.

Титрують йодовою настоянкою, ретельно перемішуючи (Рис. 3.4.) допоки крапля йоду пофарбує розчин синім кольором і він не зникне протягом 2 - 3 хвилин.

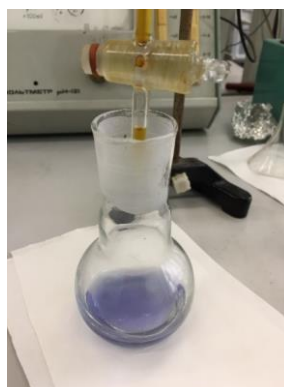


Рис. 3.4. Процес титрування

Кількість вітаміну С у зразку (мг) обчислюється за формулою:

$$m_{\text{vitC}} = V \times 0,875$$

$$m_{\text{vitCдріжджі}} = 1 \times 0,875 = 0,875 \text{ мг}$$

$$m_{\text{vitCродзинки}} = 0,4 \times 0,875 = 0,35 \text{ мг}$$

$$m_{\text{vitCрис}} = 0,7 \times 0,875 = 0,6125 \text{ мг}$$

$$m_{\text{vitCфермент}} = 0,75 \times 0,875 = 0,6125 \text{ мг}$$

Результати заносять до таблиці (вміст вітаміну С/ мг/мл) (Таблиця 3.1).

Таблиця 3.1

Результати йодометричного методу кількісного визначення вітаміну С

Зразок	Кількість витраченого розчину йоду 0,125%, мл	Вміст вітаміну С, мг/мл
медово – лимонний квас з використанням дріжджів <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1	0.0875
медово – лимонний квас з використанням мікробної асоціації виділеної з зерен не шліфованого рису	0.4	0.035
медово – лимонний квас з використанням мікробної асоціації виділеної з родзинок	0.7	0.06125
медово – лимонний квас з використання бактеріальної закваски «VIVO»	0.75	0.0656

1.1.2. Результати спектрофотометричного метод визначення вітаміну С

Готують 10% метафосфорну кислоту. 10 мл 100% метафосфорної кислоти наливають у мірну колбу ($V = 100$ мл) і об'єм доводять до 100 мл за допомогою ddH₂O.

Готують 5 % метафосфорну кислоту. 30 мл 100% метафосфорної кислоти виливають у мірну колбу ($V = 600$ мл) і доводять до 600 мл за допомогою ddH₂O.

Фільтрація квасу (рис. 3.3.).

У 20 мл відфільтрованого квасу додають 30 мл 10% метафосфорної кислоти (цей розчин умовно називатиметься Р1) (Рис. 3.5.).



Рис. 3.5. Р1 (20 мл відфільтрованого квасу додають 30 мл 10% метафосфорної кислоти)

1 мл Р1 виливають у мірну колбу ($V = 100$ мл) і доводять до 100 мл з 5% метафосфорною кислотою (отриманий розчин умовно називають Р2) (Рис. 3.6.).



Рис. 3.6. Р2 (Р1 і 99 мл 5% метафосфорної кислоти)

Отримання цитрат – ацетатного буфера (Рис. 3.7.). 22 грами Na-лимонної кислоти розводять в 40 мл ddH₂O і додають 200 мг хлормеркурбензосульфату. Доводять до рН = 4,15 за допомогою оцтової кислоти.



Рис. 3.7. Отримання цитрат – ацетатного буфера

0,6 мл P2 переносять у 2 пробірки для центрифугування, додають 0,3 мл цитрат – ацетатного буфера (отриманий розчин умовно називають супернатантом 2) (Рис. 3.8.). Пробірки струшують і центрифугують протягом 30 хвилин при 3000 об / хв. в хв (отриманий розчин умовно називають P3).



Рис. 3.8. Цитрат – ацетатний буфер

Сліпа проба: до відцентрифугованого P3 додають 0,3 мл розчину 2,6 – дихлорфеноліндофенолу та декілька кристалів аскорбінової кислоти (Рис. 3.9.). Чекають 30 секунд і проводять вимірювання на фотоелектроколориметрі на довжині хвилі 520 нм (проти H₂O).

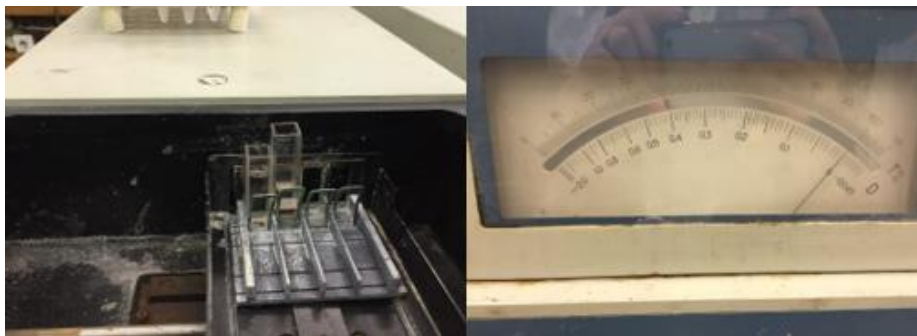


Рис. 3.9. Фотоелектроколориметр (СФ – 26. ЛОМО)

До відцентрифугованого РЗ додають 0,3 мл розчину 2,6 – дихлорфеноліндофенолу (Рис. 3.10.). Чекають 30 секунд і проводять вимірювання на фотоелектроколориметрі (СФ – 26. ЛОМО) на довжині хвилі 520 нм (проти Н₂О).

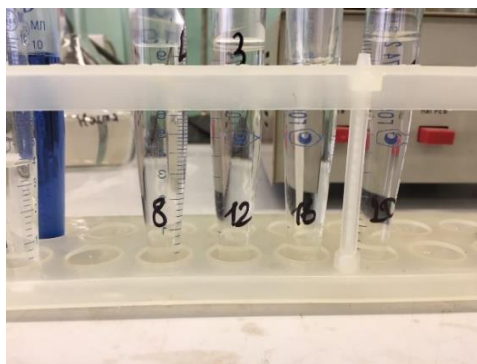


Рис. 3.10. Розчин 2,6 – дихлорфеноліндофенол

Кількість вітаміну С у зразку (мг) обчислюється за формулою:

$$m_{\text{vit C}} = E \times 1,3$$

$$m_{\text{vit Сдріжджі}} = 0,07 \times 1,3 = 0.091 \text{ мг}$$

$$m_{\text{vit Сродзинки}} = 0,0286 \times 1,3 = 0.0371 \text{ мг}$$

$$m_{\text{vit Срис}} = 0,0362 \times 1,3 = 0.04706 \text{ мг}$$

$$m_{\text{vit Сфермент}} = 0,056 \times 1,3 = 0.0728 \text{ мг}$$

Результати заносять до таблиці (вміст вітаміну С / мг/мл) (Таблиця 3.2).

Результати спектрофотометричного методу кількісного визначення вітаміну С

Назва	Оптична густина	Вміст вітаміну С, мг/мл
медово – лимонний квас з використанням дріжджів <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0.07	0.091
медово – лимонний квас з використанням мікробної асоціації виділеної з зерен не шліфованого рису <i>Oryza sativa</i>	0.0286	0.0371
медово – лимонний квас з використанням мікробної асоціації виділеної з родзинок <i>Vitis vinifera</i>	0.0362	0.04706
медово – лимонний квас з використання бактеріальної закваски «VIVO»	0.056	0.0728

1.2. Кількісний вміст ніацину у квасі

У 10 г квасу додають 1,5 г $\text{Ca}(\text{OH})_2$ та додають 40 мл dH_2O , ставлять на водяну баню на 90 хв (Рис. 3.11.). Після цього проби охолоджують і доводять обсяг до 50 мл (V_0).



Рис. 3.11. Гідроліз з $\text{Ca}(\text{OH})_2$

Гідролізат фільтрують. До 25 – 30 мл (V_1) фільтрату додають 1 краплю 1% фенолфталеїну (р-р рожевий) і далі по краплях 5N H_2SO_4 до знебарвлення (Рис. 3.12.).



Рис. 3.12. Очистка гідролізату

В кожен колбу додають по 2 мл 80% сірчаноокислого цинку, далі по краплях 4N NaOH до рожевого фарбування добре помішуючи. Фарбування видаляють кількома краплями 5N H₂SO₄. Отриманий розчин залишають на 10 хв, періодично помішуючи, потім додають 1–2 краплі спирту для усунення піни та доводять обсяг до 50 мл (V₂). Перемішують і фільтрують через складчастий фільтр (Рис. 3.13.).



Рис. 3.13. Підготовка до кольорової реакції

Для проведення кольорової реакції використовують 8 пробірок. В 3 пробірки поміщають по 5 мл робочого стандартного НК, в 4 пробірки наливають по 5 мл отриманого фільтрату (V₃), в іншу – 5мл води (сліпа проба). Всі пробірки закривають пробками і поміщають на водяну баню при 50 °С на 5 хвилин.

Потім в пробірки зі стандартним розчином і в пробірку з водою і в 2 пробірки з фільтратом додають по 2 мл роданбромідного розчину. В 2 інші

пробірки з досліджуваним розчином додають по 2 мл води (сліпа проба на присутність в розчині офарблених речовин).

Всі пробірки поміщають на водяну баню при 50 ° С на 10 хвилин. Пробірки виймають, охолоджують під струменем води до кімнатної температури, і ставлять на 10 хвилин в темне місце. Потім в кожен пробірку доливають по 3 мл розчину метола, струшують і залишають на 1 годину в темному місці при кімнатній температурі (Рис. 3.14.).



Рис. 3.14. Проведення кольорової реакції

Оптичну щільність вимірюють по відношенню до dH_2O на фотоелектроколориметрі при довжині хвилі 425 нм (Рис. 3.15.).



Рис. 3.15. Вимірювання оптичної густини на фотоелектроколориметрі (СФ – 26. ЛОМО)

Розрахунок результатів ведуть за формулою:

$$\chi = \frac{(A-A_1) \cdot V_0 \cdot V_2 \cdot n \cdot 100}{(B-B_1) \cdot V_1 \cdot V_3 \cdot g \cdot 1000} \text{ мг/\%}$$

$$x_{\text{вітСдріжджі}} = \frac{0,085 \cdot 50 \cdot 50 \cdot 10 \cdot 100}{0,105 \cdot 25 \cdot 5 \cdot 10 \cdot 1000} = 1,162 \text{ мг/\%}$$

$$x_{\text{вітСродзинки}} = \frac{0,043 \cdot 50 \cdot 50 \cdot 10 \cdot 100}{0,105 \cdot 25 \cdot 5 \cdot 10 \cdot 1000} = 0,811 \text{ мг/\%}$$

$$x_{\text{вітСрис}} = \frac{0,012 \cdot 50 \cdot 50 \cdot 10 \cdot 100}{0,105 \cdot 25 \cdot 5 \cdot 10 \cdot 1000} = 0,23 \text{ мг/\%}$$

$$x_{\text{вітСфермент}} = \frac{0,145 \cdot 50 \cdot 50 \cdot 10 \cdot 100}{0,105 \cdot 25 \cdot 5 \cdot 10 \cdot 1000} = 2,76 \text{ мг/\%}$$

Результати вимірювання вмісту ніацину представлені у таблиці (вміст ніацину/ мг/%) (Таблиця 3.3).

Таблиця 3.3

Результати кількісного визначення ніацину

Назва	Оптична густина	Вміст ніацину, мг/%
медово – лимонний квас з використанням дріжджів <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0,085	1,162
медово – лимонний квас з використанням мікробної асоціації виділеної з зерен не шліфованого рису <i>Oryza sativa</i>	0,012	0,23
медово – лимонний квас з використанням мікробної асоціації виділеної з родзинок <i>Vitis vinifera</i>	0,043	0,811
медово – лимонний квас з використання бактеріальної закваски «VIVO»	0,145	2,76

3.3. Асоціація мікроорганізмів, виділена з родзинок



Рис. 3.20. Результати посіву дослідного зразку асоціації мікроорганізмів, виділених з родзинок на середовищі Сабуро

Saccharomyces vini - вид дріжджів. За систематикою Кудрявцева В. І. (1954) вид *Saccharomyces vini* відноситься до роду *Saccharomyces* сімейства *Saccharomycetaceae* порядку *Saccharomycetales* (одноклітинні гриби – дріжджі) класу Fungi та є активним продуцентом аскорбінової кислоти та ніацину [27].

Основним місцем проживання дріжджів *Saccharomyces vini* є стиглі (особливо пошкоджені) ягоди винограду і соки, що йдуть на приготування вин і безалкогольних напоїв [27].

Дріжджові клітини *Saccharomyces vini* мають круглу, яйцеподібну або овальну форму. Розміри (5 – 7) x (8 – 11) мкм. Розмножуються брунькуванням або за допомогою спор. При несприятливих умовах утворюють сумки (аски) зі спорами (по 1-4 суперечки в кожній сумці). Спори мають кулясту і злегка овальну форму з гладкими оболонками, безбарвні [28].

Дріжджі *Saccharomyces vini* асимілюють і зброджують глюкозу, галактозу, сахарозу, мальтозу і рафінозу (на 1/3), не засвоюють і не зброджують декстрини, лактозу, інулін, ксилозу, арабінозу. Асимілюють етиловий спирт і гліцерин, які не засвоюють манніт, дульцит, сорбіт. З органічних кислот засвоюють оцтову і молочну, що не засвоюють бурштинову, яблучну, винну і лимонну [28].

Характерна особливість дріжджів *Saccharomyces vini* - їх значна спиртостійкі (до 16% об.). Бродильна здатність *Saccharomyces vini* вище бродильної здатності інших видів дріжджів [28].



Рис. 3.21. Результати посіву дослідного зразку асоціації мікроорганізмів виділених з родзинок на середовищі Сабуро

Pichia – рід телеоморфних дріжджів родини *Saccharomycetaceae*. Дріжджі зі сферичними, еліптичними або довгастими гострими клітинами. *Pichia* є телеоморфом і утворює капелюхоподібні, півсферичні або круглі аскоспори під час статевого розмноження. Безстатеве розмноження відбувається за допомогою багатостороннього розпускання [29].

Відомо понад 100 видів цього роду. Деякі з них сприяють процесу бродіння для виробництва алкоголю. Більшість представників *Pichia* зустрічається в загниваючих рослинах; деякі живуть у тісному симбіозі з комахами, які живуть на тліючих рослинах [29].

Pichia є активним продуцентом ніацину [29].

3.4. Асоціація мікроорганізмів, виділена з зерен рису



Рис. 3.22. Результат посіву дослідного зразку асоціації мікроорганізмів, виділених з зерен не шліфованого рису на середовищі Гісса

Erwinia – рід бактерій родини *Enterobacteriaceae*. Грам – позитивні бактерії, 1 – 3 мкм завдовжки і 0,5 – 1 мкм в діаметрі. Рухомі, мають численні джгутики [30].

Гетеротрофи, факультативні анаероби. Більшість представників роду асоційовані з рослинами, серед них є епіфіти, сапротрофи, фітопатогени [30].

Erwinia є продуцентом ніацину та аскорбінової кислоти [30].

3.5. Висновки до розділу

Визначено кількісний вміст вітаміну С у медово – лимонному квасі з використання дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* – 0,0892 мг/мл, з використанням мікробної асоціації, виділеної з зерен *Oryza sativa* – 0,036 мг/мл, використанням мікробної асоціації, виділеної з родзинок *Vitis vinifera* – 0,054 мг/мл, з використанням бактеріальної закваски «VIVO» – 0,0692 мг/мл.

Визначено кількісний вміст ніацину у медово – лимонному квасі з використанням дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* – 2,76 мг/%, з використанням мікробної асоціації, виділеної з зерен *Oryza sativa* – 0,23 мг/%, з використанням мікробної асоціації, виділеної з родзинок *Vitis vinifera* – 0,811 мг/%, з використанням бактеріальної закваски «VIVO» – 1,162 мг/%.

Завдяки мікробіологічному посіву дослідного зразку медово – лимонного квасу з використанням мікробної асоціації, виділеної з родзинок *Vitis vinifera*, були виявлені дріжджі *Saccharomyces vini* (є активним продуцентом аскорбінової кислоти та ніацину за літературними джерелами) та телеоморфні дріжджі родини *Saccharomycetaceae* - *Pichia* (продуценти ніацину за літературними джерелами).

Під час мікробіологічного посіву дослідного зразку медово – лимонного квасу з використанням мікробної асоціації виділеної з зерен *Oryza sativa*, були виявлені бактерії *Erwinia* — рід бактерій родини *Enterobacteriaceae*, які є продуцентом ніацину та аскорбінової кислоти за літературними джерелами.

РОЗДІЛ 4

ОХОРОНА ПРАЦІ

4.1. Небезпечні та шкідливі виробничі фактори, при кількісному визначенні вмісту вітамінів

Проаналізувавши умови праці при виконанні експериментальної частини дипломної роботи у лабораторії Інституту біохімії ім. О.В.Палладіна можна виділити ряд шкідливих та небезпечних виробничих факторів, які впливають на здоров'я і працездатність людини. Відповідно до ГОСТ 12.0.003-74 на працівника у лабораторії діяли фізичні та хімічні небезпечні виробничі фактори. До фізичних належать підвищена температура повітря робочої зони, підвищені рівні шуму на робочому місці, знижена рухливість повітря та ін [32].

Підвищена температура повітря робочої зони. Джерелом фактору є електричні плити, дистиллятори, автоклави та сушильні шафи. У теплу пору року, завдяки роботі приладів відбувається значне підвищення температури повітря робочого приміщення до 34-38 °С, при відносній вологості 40-60 %, що негативно впливає на організм працівника [33].

Подразнюючі небезпечні і шкідливі виробничі фактори. До цієї групи хімічних факторів належать сірчана кислота, яка використовувалась в ході експерименту з кількісного визначення ніацину та NH_4Cl , що використовувався для приготування середовища Гіса. Сірчана кислота належить до 2-го класу безпеки, а її ГДК у повітрі робочої зони становить 1 мг/м³. NH_4Cl за ступенем дії на організм людини входить до 3-го класу безпеки і є помірно небезпечна для працівників

Токсичні хімічні небезпечні і шкідливі виробничі фактори. Робота в лабораторії пов'язана з використанням речовин, які можуть мати несприятливий вплив на людину. Шкідливі та отруйні речовини у вигляді парів, газів, проникаючи в організм людини в невеликих кількостях, викликають порушення його фізіологічних функцій. До цієї групи хімічних

факторів належить Γ^+ , який використовуються для ідентифікації вітаміну С та спирт етиловий, що використовувався для дезінфекції інструментів під час виконання експериментальної частини дипломної роботи. Розчин йоду належить до 2-го класу небезпеки, а його ГДК у повітрі робочої зони становить 1 мг/м^3 . Етиловий спирт належить до 4-го класу небезпеки, а його ГДК у повітрі робочої зони становить 1000 мг/м^3 .

Підвищені рівні шуму на робочому місці. Основними джерелами шуму у приміщенні лабораторії є холодильник побутовий «Elenverg», центрифуга Ц-80-2А та шафа сушильна електрична СП-50. Нормативний рівень звуку згідно з ДСН 3.3.6.037-99 для приміщень де виконуються висококваліфіковані роботи, вимірвальні та аналітичні роботи становить 50 дБА. Фактичне значення шуму при виконанні робіт в лабораторії становить 58 дБА, що не відповідає встановленим нормам [34].

Знижена рухливість повітря. На працездатність та ступінь чистоти повітря можуть впливати повітряні течії. Швидкість руху повітря регулюється природною і штучною вентиляцією. У робочій зоні виробничих приміщень ДСН 3.3.6.042-99 встановлює норми швидкості руху повітря в теплий, холодний і перехідний періоди року. Якщо швидкість повітряного потоку занадто низька (норма $0,1 \text{ м/с}$), то утворюються застійні зони, де збираються шкідливі виділення (гази, волога, пил, пар) [34].

4.2. Технічні та організаційні заходи для зменшення рівня впливу небезпечних та шкідливих виробничих факторів, при кількісному визначенні вмісту вітамінів

Зменшення рівня впливу підвищеної температури. Для забезпечення оптимальних умов праці категорії Па, в лабораторних приміщеннях використовують центральні опалювальні системи і природні вентиляції, для регуляції температури повітря, відносної вологості та швидкості руху повітря, а також будівельно-планувальні, організаційно-технологічні, санітарно-технічні

та ін. заходи колективного захисту. ДСН 3.3.6.042-99 встановлює норми оптимальної температури на робочих місцях [34].

Для зменшення термічних навантажень на працюючих передбачається максимальна механізація, автоматизація та дистанційне управління технологічними процесами і устаткуванням [34].

Для зменшення впливу підвищеної температури у приміщеннях із значними площами застелених поверхонь передбачаються заходи щодо захисту від перегрівання при попаданні прямих сонячних променів в теплий період року (орієнтація віконних прорізів схід - захід, улаштування жалюзей та ін.) [34].

У виробничих приміщеннях з надлишком (явного) тепла використовують природну вентиляцію (аерацію). Аераційні ліхтарі та шахти розташовують безпосередньо над основними джерелами тепла на одній осі. У разі неможливості або неефективності аерації встановлюють механічну загальнообмінну вентиляцію. При наявності одиничних джерел тепловиділень оснащують обладнання місцевою витяжною вентиляцією у вигляді локальних відсмоктувачів, витяжних зонтів та ін. У невеликих за об'ємом приміщеннях при виконанні робіт використовують системи кондиціонування повітря з індивідуальним регулюванням температури та об'єму повітря, що подається [34].

Лабораторії інституту біохімії ім. О.В.Палладіна оснащені системою вентиляції, що включає в себе місцеві вентиляційні системи з використанням витяжних шаф, а також загальну витяжну вентиляцію. У теплий період року використовується загальна система кондиціонування повітря. Всі вище перераховані системи вентиляції дозволяють підтримувати відповідну до вимог ДСН 3.3.6.042-99 температуру та вологість повітря.

Контроль параметрів мікроклімату здійснюється термометром.

Захист від несприятливого впливу хімічних небезпечних і шкідливих виробничих факторів. Захист від несприятливого впливу хімічних речовин у лабораторії можна здійснювати за допомогою таких заходів:

- влаштування місцевої вентиляції для відсмоктування шкідливих речовин безпосередньо від місця їх утворення;
- удосконалення і розробки нових технологічних процесів, які виключають використання шкідливих хімічних речовин;
- заміни шкідливих речовин менш шкідливими;
- установлення концентрації хімічних речовин у сумішах;
- використання індивідуальних засобів (спецодягу, окулярів, шоломів, масок, протигазів та респіраторів, антисептичних паст і т. д.);
- контролю за станом повітряного середовища на робочих місцях;
- токсикологічної експертизи і гігієнічної стандартизації всіх хімічних речовин;
- проведення періодичних профілактичних медичних оглядів;

На робочих місцях вивішені інструкції з експлуатації лабораторного обладнання з урахуванням вимог біологічної безпеки. Для попередження отруєнь усі ємності мають етикетку з назвою реактиву, хімічною формулою, датою, токсичністю. Відходи хімічних реактивів та органічних розчинників зберігаються у спеціальних контейнерах. Роботу з отруйними речовинами та біологічним матеріалом виконували в гумових рукавицях та захисних окулярах.

До самостійної роботи у лабораторії допускаються особи, яким виповнилося 18 років та які пройшли інструктаж з охорони праці на робочому місці, медогляд та мають відповідну освіту. У приміщенні лабораторії на видному місці знаходяться укомплектована аптечка із засобами першої медичної допомоги.

Зменшення впливу підвищеного рівня шуму. Зменшення рівня шуму у лабораторії можна здійснювати за допомогою таких заходів [32]:

- боротьба з шумом в джерелі його виникнення. Створюються мало шумні механічні передачі, розроблено способи зниження шуму в підшипникових вузлах, вентиляторів [35];
- зниження шуму звукоізоляцією. Суть цього методу полягає тому, що шумовипромінювальний об'єкт або декілька найбільш шумних об'єктів

розташовуються окремо, ізольовано від основного, менш шумного приміщення звукоізолювальною стіною або перегородкою [35];

- акустична обробка приміщень. Штучні поглиначі можуть застосовуватись окремо або в поєднанні з личкуванням стелі та стін. Ефективність акустичної обробки приміщень залежить від звукопоглинальних властивостей застосовуваних матеріалів та конструкцій, особливостей їх розташування, об'єму приміщення, його геометрії, місць розташування джерел шуму. Ефект акустичної обробки більший в низьких приміщеннях (де висота стелі не перевищує 6 м) витягненої форми. Акустична обробка дозволяє знизити шум на 8 дБА [35].

Відповідно до ГОСТ 12.1.029-80 для захисту від підвищеного рівня шуму в лабораторії інституту біохімії ім. О.В.Палладіна можливе використання як колективних, так і індивідуальних заходів та засобів захисту (використання навушників, протишумових вкладок, шумозаглушувальних шоломів). Колективного захисту від шуму у лабораторії можна досягти зменшенням шуму в самому джерелі [36].

Найбільш оптимальними заходами захисту від шуму, які можна використати у лабораторії – це віддалене розташування центрифуг та холодильників від робочих місць. Крім того, для боротьби з шумом в лабораторії пропонується ввести додаткові акустичні заходи - звукоізоляція та звукопоглинання.

Контроль параметрів шуму здійснюється шумоміром UNI – T UT352.

Засоби захисту та нормалізація рухливості повітря. Вентиляція повинна здійснюватися за допомогою припливно – витяжної системи відповідно до ДБН В.2.5-67:2013. В усіх лабораторіях, що будуються або реконструюються, необхідно передбачати обладнання автономної припливно – витяжної вентиляції з встановленням фільтрів тонкого очищення повітря. Лабораторії, де використовують токсичні хімічні речовини, мають бути оснащені штучними витяжними шафами закритого типу [37].

У лабораторії інституту біохімії ім. О.В.Палладіна подача свіжого повітря в робочу зону здійснюється на висоті 1,5 – 2 метри від підлоги. Всі роботи з шкідливими легко летючими речовинами проводяться в вентиляційній шафі, яка обладнана верхньою та нижньою витяжками.

4.2.1. Розрахунок загальнообмінної вентиляції для нормалізації рухливості повітря – лабораторії біохімії вітамінів інституту біохімії ім. О.В.Палладіна

Об'єм вентиляційного повітря визначається для кожного приміщення окремо, з урахуванням наявності шкідливих домішок (речовин), або задається за результатами раніше проведених досліджень. Якщо характер та кількість шкідливих домішок (речовин) не піддаються обліку, повітрообмін визначають за кратністю [32]:

$$L = V_{\text{пр}} * K_{\text{р}} \left(\frac{\text{м}^3}{\text{год}} \right)$$

де L - загальна кількість повітря, м³/год

V - обсяг приміщення, м³

n - мінімальна кратність повітрообміну, (n = 3)

Для лабораторних приміщень даного типу, мінімальна кратність повітрообміну становить 3 м³/год.

$$L = 74 * 3 = 222 \text{ м}^3/\text{год}$$

Загальна кількість повітря (L) для лабораторії біохімії вітамінів інституту біохімії ім. О.В.Палладіна становить 222 м³/год.

4.3. Забезпечення пожежної та вибухової безпеки при кількісному визначенні вмісту вітамінів

Вірогідними джерелами пожежі в рамках виконання експерименту можуть бути: виникнення полум'я при перенавантаженні електричного обладнання (електричні плити, атоклави, сушильні шафи) та пошкодженні

електропроводки; займання легкоокисних органічних та неорганічних речовин при контакті з вогнем або з окисниками внаслідок порушення правил зберігання легкозаймистих речовин, використанні відкритого полум'я, прямий удар блискавки в будівлю [38]. Загоряння може відбутися під час стерилізації сухим жаром посуду, що загорнена в папір, за умов неправильного режиму роботи сушильної шафи. Причиною пожеж може стати несправність електричних приладів.

Попередження пожежі в лабораторії може досягатися, якщо буде встановлений відповідний протипожежний режим [39]:

- порядок проведення тимчасових робіт;
- максимальна механізація і автоматизація технологічних процесів, пов'язаних з вживанням горючих речовин;
- порядок огляду та зачинення приміщень після закінчення роботи;
- порядок проходження посадовими особами навчання та перевірки знань з пожежної безпеки, а також проведення з працівниками протипожежних інструктажів та занять з пожежно-технічного мінімуму з призначенням відповідальних за їх проведення [39];
- порядок організації експлуатації і обслуговування наявних технічних засобів протипожежного захисту (протипожежного водопроводу, насосних станцій, вогнегасників тощо) [39];
- максимально можливим застосуванням негорючих і важкогорючих речовин і матеріалів [39];
- обмеженням маси і об'єму горючих речовин, матеріалів та найбільш безпечним способом їх розміщення [39];

Лабораторії біохімії вітамінів інституту біохімії ім. О.В.Палладіна відноситься до пожежонебезпечних приміщень категорії Б, тому що в лабораторії знаходяться легкозаймисті рідини з температурою спалаху більше 28 °С, і має II ступінь вогнестійкості.

В умовах пожежної безпеки лабораторія оснащена засобами пожежогасіння та протипожежним інвентарем. У коридорі на висоті 1,35 м від

рівня підлоги розташовані внутрішні крани з викидних рукавами для гасіння пожежі водою. Для гасіння невеликих вогнищ пожежі передбачені вогнегасники ОХП-10. При загорянні електродвигунів, електропроводки застосовуються азбестові ковдри. У лабораторії зберігаються ящики з сухим піском. Всі засоби пожежогасіння розташовані в лабораторії на видному місці з вільним підходом до них.

4.4. Висновки до розділу

Небезпечними та шкідливими виробничими факторами у лабораторії є підвищена температура повітря робочої зони, підвищені рівні шуму на робочому місці, знижена рухливість повітря та несприятливий вплив хімічних небезпечних та шкідливих виробничих факторів. Для захисту працівників застосовують різні колективні та індивідуальні засоби захисту. Розраховано, що загальна кількість повітря (L) для лабораторії біохімії вітамінів інституту біохімії ім. О.В.Палладіна становить 222 м³/год. На випадок пожежі або вибуху мають передбачатися засоби пожежогасіння, план евакуації персоналу, інструкції під час пожежі/вибуху, сигналізації та датчики диму, ремонт обладнання та профілактичні огляди.

РОЗДІЛ 5

ОХОРОНА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА

5.1. Технології виготовлення квасу

Було розроблено 4 методи виробництва лимонно – медового квасу з використанням різних бродильних компонентів (з використанням дріжджів *Saccharomyce serevisiae*, з використанням мікробної асоціації, виділеної з родзинок *Vitis vinifera*, з використанням мікробної асоціації, виділеної з зерен не шліфованого рису *Oryza sativa* та з використанням бактеріальної закваски «VIVO»).

5.2. Розрахунок еколого – економічного ефекту

Для зручності порівняння, розрахунки будуть проводитися для виготовлення 1 літру квасу.

Ціни на сировину, електроенергію та інші витрати вказані на період проведення підрахунків (січень 2020).

Витрати на сировину для виробництва квасу

Таблиця 5.1.

Витрати на сировину для виробництва медово – лимонного квасу з використанням дріжджів *Saccharomyce serevisiae*

Назва сировини	Потрібна кількість сировини	Вартість сировини	Вартість сировини використаної для виробництва 1 л квасу
Вода	700 мл	1грн/літр	70 коп
Мед	150 грам	70 грн/кг	10 грн 50 коп
Дріжджі <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5 г	6 грн/упаковку (11 грам)	3 грн
Лимон	22 г	38 грн/кг	80 коп

Витрати на сировину для виробництва 1 літру медово – лимонного квасу з використанням дріжджів *Saccharomyce serevisiae* – 15 грн.

Таблиця 5.2.

Витрати на сировину для виробництва медово – лимонного квасу з використанням мікробної асоціації, виділеної з родзинок *Vitis vinifera*

Назва сировини	Потрібна кількість сировини	Вартість сировини	Вартість сировини використаної для виробництва 1 л квасу
Вода	700 мл	1 грн/літр	70 коп
Мед	150 грам	70 грн/кг	10 грн 50 коп
Родзинки <i>Vitis vinifera</i>	10 г	78 грн/упаковку (200 грам)	3 грн 90 коп
Лимон	22 г	38 грн/кг	80 коп

Витрати на сировину для виробництва 1 літру медово – лимонного квасу з використанням мікробної асоціації, виділеної з родзинок *Vitis vinifera* – 15 грн 90 коп.

Таблиця 5.3.

Витрати на сировину для виробництва медово – лимонного квасу з використанням мікробної асоціації, виділеної з зерен не шліфованого рису

Oryza sativa

Назва сировини	Потрібна кількість сировини	Вартість сировини	Вартість сировини використаної для виробництва 1 л квасу
Вода	700 мл	1 грн/літр	70 коп
Мед	150 грам	70 грн/кг	10 грн 50 коп
Зерена не шліфованого рису <i>Oryza sativa</i>	3 г	57 грн/кг	20 коп
Лимон	22 г	38 грн/кг	80 коп

Витрати на сировину для виробництва 1 літру медово – лимонного квасу з використанням мікробної асоціації, виділеної з зерен не шліфованого рису *Oryza sativa* – 12 грн 20 коп.

Таблиця 5.4.

Витрати на сировину для виробництва медово – лимонного квасу з використанням бактеріальної закваски «VIVO»

Назва сировини	Потрібна кількість сировини	Вартість сировини	Вартість сировини використаної для виробництва 1 л квасу
Вода	700 мл	1грн/літр	70 коп
Мед	150 грам	70 грн/кг	10 грн 50 коп
бактеріальна закваска «VIVO»	2,5 г	9 грн 50 коп/5 грам	4 грн 75 коп
Лимон	22 г	38 грн/кг	80 коп

Витрати на сировину для виробництва 1 літру медово – лимонного квасу з використанням бактеріальної закваски «VIVO» – 16 грн 75 коп.

Витрати на електроенергію для виробництва квасу

Таблиця 5.5.

Витрати на електроенергію для виробництва квасу

Назва обладнання	Потрібна кількість обладнання	Потужність пристрою, кВт	Час роботи обладнання	Ціна 1 кВт/год	Сума витрати
Емність для бродіння з терморегулятором	1	0,1	72 год	3 грн	21 грн 60 коп
Аналітичні ваги	1	0,0027	1 год	3 грн	1 коп
pH – метр	1	0,05	1 год	3 грн	15 коп
Освітлювальний пристрій	1	0,015	5 год	3 грн	23 коп
Сума					27 грн 99 коп

Виробництво квасу включає в себе 4 технологічних процесів (ТП 1. Бродіння, ТП 2. Відокремлення культуральної рідини від біомаси, ТП 3. Фільтрація, ТП 4. Фасування)). ТП 1 супроводжуються ХП (хімічним процесом,

в даному випадку підтримка температури), тобто потребує затрат електроенергії.

Також, для виробництва квасу знадобиться використання таких електроприборів, як аналітичні ваги та рН – метр.

Розрахунок витрат на електроенергію був проведений для виготовлен 50 л квасу, тобто сума витрат на електроенергію для виробництва 1 літра квасу становить – 56 коп.

Витрати на утилізацію для виробництва квасу

Таблиця 5.6.

Витрати на утилізацію для виробництва квасу

Назва квасу	Кількість відходів з дослідного зразку, грами	Вартість утилізації органічних відходів	Вартість утилізації органічних відходів з дослідного зразку
Медово – лимонний квас з використанням дріжджів <i>Saccharomyce serevisiae</i>	42	1000 грн/25 кг	1 грн 68 коп
Медово – лимонний квас з використанням мікробної асоціації, виділеної з родзинок <i>Vitis vinifera</i>	51	1000 грн/25 кг	2 грн 4 коп
Медово – лимонний квас з використанням мікробної асоціації, виділеної з зерен не шліфованого рису <i>Oryza sativa</i>	47	1000 грн/25 кг	1 грн 88 коп
Медово – лимонний квас з використанням бактеріальної закваски «VIVO»	39	1000 грн/25 кг	1 грн 56 коп

Вихідним продуктом ТП 4 та ТП 5 є органічні відходи.

З 1 л медово – лимонного квасу з використанням дріжджів *Saccharomyce serevisiae* отримали 42 грами органічних відходів.

З 1 л медово – лимонного квасу з використанням мікробної асоціації, виділеної з родзинок *Vitis vinifera* отримали 51 грами органічних відходів.

З 1 л медово – лимонного квасу з використанням мікробної асоціації, виділеної з зерен не шліфованого рису *Oryza sativa* отримали 47 грами органічних відходів.

З 1 л медово – лимонного квасу з використанням бактеріальної закваски «VIVO» отримали 39 грами органічних відходів.

5.3. Висновки до розділу

Сумарні еколого – економічні витрати на виробництво 1 л медово – лимонного квасу з використанням дріжджів *Saccharomyce serevisiae* становлять 17 грн 24 коп.

Сумарні еколого – економічні витрати на виробництво 1 л медово – лимонного квасу з використанням мікробної асоціації, виділеної з родзинок *Vitis vinifera* становлять 18 грн 50 коп.

Сумарні еколого – економічні витрати на виробництво 1 л медово – лимонного квасу з використанням мікробної асоціації, виділеної з зерен не шліфованого рису *Oryza sativa* становлять 14 грн 64 коп.

Сумарні еколого – економічні витрати на виробництво 1 л медово – лимонного квасу з використанням бактеріальної закваски «VIVO» становлять 18 грн 87 коп.

Найбільш економічно вигідною, є технологія медово – лимонного квасу з використанням мікробної асоціації, виділеної з зерен не шліфованого рису *Oryza sativa*. Але з урахування еколого – економічного показнику та показників кількісного вмісту вітамінів, найбільш вдалою є технологія з використанням дріжджів *Saccharomyce serevisiae*.

ВИСНОВКИ

1. Розроблено 4 методи виробництва лимонно – медового квасу з використанням різних бродильних компонентів (з використанням дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, з використанням мікробної асоціації, виділеної з родзинок *Vitis vinifera*, з використанням мікробної асоціації, виділеної з зерен не шліфованого рису *Oryza sativa* та з використанням бактеріальної закваски «VIVO»).

2. Під час мікробіологічного посіву дослідного зразку медово – лимонного квасу з використанням мікробної асоціації виділеної з родзинок *Vitis vinifera*, виділено асоціацію дріжджів *Saccharomyces vini* та асоціацію телеоморфних дріжджів родини *Saccharomycetaceae* – *Pichia*.

Під час мікробіологічного посіву дослідного зразку медово – лимонного квасу з використанням мікробної асоціації виділеної з зерен *Oryza sativa*, виділено асоціацію бактерій *Erwinia*.

3. Визначено кількісний вміст вітаміну С у медово – лимонному квасі з використання дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* – 0,0892 мг/мл, з використанням мікробної асоціації, виділеної з зерен *Oryza sativa* – 0,036 мг/мл, використанням мікробної асоціації, виділеної з родзинок *Vitis vinifera* – 0,054 мг/мл, з використанням бактеріальної закваски «VIVO» – 0,0692 мг/мл.

Проведено кількісне визначення ніацину у різних видах квасу. Визначено кількісний вміст ніацину у медово – лимонному квасі з використання дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* – 2,76 мг/%, з використанням мікробної асоціації, виділеної з зерен *Oryza sativa* – 0,23 мг/%, з використанням мікробної асоціації, виділеної з родзинок *Vitis vinifera* – 0,811 мг/%, з використанням бактеріальної закваски «VIVO» – 1,162 мг/%.

4. Технологія виготовлення квасу з використанням дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* у якості бродильного компоненту забезпечує

максимальний вміст вітаміну С – 0,0892 мг/мл та максимальних вміст ніацину - 2,76 мг/%.

СПИСОК БІБЛОГРАФІЧНИХ ПОСИЛАНЬ ВИКОРИСТАНИХ

ДЖЕРЕЛ

1. Фактичне харчування спортсменів як основа розробки адекватного харчування/ Карповець П.М., Григор'єва Л.І. - *Інститут екогігієни і токсикології ім. Л.І. Медведя, м. Київ*
2. Основи харчування/ М.І. Кручаниця, І.С. Миронюк, Н.В. Розумикова, В.В. Кручаниця, В.В. Брич, В.П. Кіш – Ужгород 2019
3. http://esu.com.ua/search_articles.php?id=34951
4. Питання харчування 1963, №4, с. 66-70 Е.Н. Степанова «Метод визначення ніацину у харчових продуктах»
5. Кількісне визначення вітаміну С в модельних харчових системах/ Н.О. Отрошко, В.В. Євлаш, З.В. Вакшуль - Харків, 2012
6. <https://biolin.ub.ua/goods/view/12085638/all/kislota-askorbinova-farm-купiti/>
7. Біологічна хімія/ Ю.І.Губський – Київ – Тернопіль, 2000.
8. [http://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?\[17539\]](http://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?[17539])
9. http://biochem.vsmu.edu.ua/biochem_common_u/vitamins_ukr.pdf
10. Біохімія практикум/ Л. І. Остапченко, І. В. Компанець, О. В. Скопенко, Т.Б. Синельник, О. О. Кравченко, С. М. Береговий – Київ
11. <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/wp/wp-content/uploads/2010/09/1775.html>
12. <https://medfond.com/korysni-produkty/vse-pro-bolgarskii-perec.html>
13. https://pidruchniki.com/68987/ekologiya/biotichni_antropogenni_faktori_vpliv_roslini_fitotsenozi
14. https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%9D%D1%96%D0%BA%D0%BE%D1%82%D0%B8%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D0%B0_%D0%BA%D0%B8%D1%81%D0%BB%D0%BE%D1%82%D0%B0

15. *Биохимия / Под ред. чл.-кор. РАН Е.С. Северина. — М., 2003; Боєчко Ф.Ф., Боєчко Л.О. Основні біохімічні поняття, визначення і терміни. — К., 1993; Гонський Я.І., Максимчук Т.Т. Біохімія людини. — Тернопіль, 2001.*
16. <https://ub.ua/market/view/686104/all/nikotinova-kislota-niacin-vitamin-r/>
17. *Боєчко Ф.Ф., Боєчко Л.О. Основні біохімічні поняття, визначення і терміни. — К., 1993; Вороніна Л.М., Десенко В.Ф., Мадієвська Н.М. та ін. Біологічна хімія. — Х., 2000; Губський Ю.І. Біологічна хімія. — К.–Тернопіль, 2000.*
18. <https://www.nikolab.com.ua/uk/lipidograma-analiz-na-cholesterin/>
19. <https://studfile.net/preview/9055739/page:91/>
20. Вітаміни/ Кафедра хімії та біохімії ім. професора О.В. Чечоткіна – Харків, 2017.
21. https://agromage.com/stat_id.php?id=355
22. <http://foodtechnology.info/tehnologiya-kvasu-i-bezalkogolnyh-napoyiv>
23. <https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%9A%D0%B2%D0%B0%D1%81>
24. <http://www.tsatu.edu.ua/ophv/wp-content/uploads/sites/13/lekcija-12-tehnolohichne-obladnannja-malyh-pidpnyemstv-po-vyrobnyctvi-kvasu-j-pyva.pdf>
25. <http://foodtechnology.info/tehnologiya-kvasu-i-bezalkogolnyh-napoyiv>
26. <http://arseniivskiyi-kvas.com.ua/birobnitstvo-givogo-kvasu/>
27. Наукова-систематика мікроорганізмів виробництва/ С. Кишковська, Н. Бур'ян, Т. Скорікова – Ялта, 2010
28. Мікробіологія галузі/ Н.М.Грегірчак – Київ, 2014.
29. <https://uk.wikipedia.org/wiki/Pichia>
30. <https://uk.wikipedia.org/wiki/Erwinia>
31. Kvas wort concentrate, kvas concentrates and extracts. Specifications
32. ГОСТ 12.0.003-74. Система стандартів безпеки праці. Опасные и вредные производственные факторы. Классификация
33. Постанова № 42 від 01.12.99 - Санітарні норми мікроклімату виробничих приміщень ДСН 3.3.6.042-99.

34. ДСН 3.3.6.037-99. Санітарні норми виробничого шуму, ультразвуку та інфразвуку.
35. https://life-prog.ru/ukr/1_1515_znizhennya-shumu-akustichnoyu-obrobkoju-primishchennya.html
36. ГОСТ 12.1.005-88 Система стандартів безпеки праці. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны
37. ГОСТ 12.1.029-80 "Система засобів безпеки праці. Засоби і методи захисту від шуму. Класифікація"
38. Захаров Л. П. Техника безопасности в химических лабораториях. – Л.: Химия, 1985. – 184 с.
39. <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1533-04>
40. Джейн Тейлор. Мікроорганізми та біотехнологія / Джейн Тейлор, 2001. - 184 с.
41. Міжнародна комісія з мікробіологічних специфікацій харчових продуктів. Мікроорганізми в продуктах харчування 5: Характеристика мікробних збудників / Міжнародна комісія з мікробіологічних специфікацій харчових продуктів., 1996. - 513 с.
42. Дерек Г. С. Біотехнологія - наука і бізнес / Спрингем Дерек Г., 1999. - 686 с.
43. Уокер Дж. Молекулярна біологія та біотехнологія / Джон М. Уокер., 2009. - 604 с.