

Міністерство освіти і науки України

Одеський національний технологічний університет

Кафедра харчової хімії та експертизи



**ПОЯСНЮВАЛЬНА ЗАПИСКА
ДО КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ МАГІСТРА**

на тему:

**Розроблення технології та обґрунтування критеріїв
оцінки якості дієтичної добавки
на основі білків молока**

Здобувач Найдьонов О. Ю.
(прізвище та ініціали студента)
2 курсу ТМ – 65 групи

Керівники: професор Черно Н. К.
доцент Гураль Л. С.
(посада, прізвище та ініціали)

Кваліфікаційна робота допускається до захисту

Рішення кафедри від 09.06.2023 р., протокол № 9.

Завідувачка кафедри ХХтаЕ _____ Антоніна КАПУСТЯН
(підпис) (Ім'я ПРІЗВИЩЕ)

Одеса – 2023 рік

Одеський національний технологічний університет

(повне найменування вищого навчального закладу)

Факультет Технології та товарознавства харчових продуктів і продовольчого бізнесу
Кафедра Харчової хімії та експертизи
Ступінь вищої освіти магістр
Спеціальність 181 «Харчові технології»
Освітня програма «Технологічна експертиза та безпека харчової продукції»

ЗАТВЕРДЖУЮ
зав. кафедри ХХтаЕ
д.т.н., доц. Капустян А.І.

(підпис)

«___» _____

2023 р.

З А В Д А Н Н Я
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

Найдьонова Олексія Юрійовича

(прізвище, ім'я та по батькові)

1. Тема роботи: Розроблення технології та обґрунтування критеріїв оцінки якості дієтичної добавки на основі білків молока
затверджена наказом ОНАХТ від 18.10.2022 р. №732-03

2. Термін здачі здобувачем закінченої роботи

3. Вихідні дані роботи

Об'єкт дослідження: стабілізовані препарати білка

Предмет дослідження: білковий продукт із включенням лактоферину, харчові волокна чорнозерної пшениці, некрохмальні полісахаридні матриці

НАССР план

4. Перелік питань, які потрібно розробити

Вступ

РОЗДІЛ 1 Аналіз літературних джерел

РОЗДІЛ 2 Об'єкти та методи дослідження

РОЗДІЛ 3 Експериментальна частина

РОЗДІЛ 4 Технологічна частина

РОЗДІЛ 5 Охорона праці та навколишнього середовища

РОЗДІЛ 6 Інвестиційна привабливість розробки

Висновки

Список використаних джерел

5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень)

Презентація (21 слайд)

АНОТАЦІЯ

Тема: Розроблення технології та обґрунтування критеріїв оцінки якості дієтичної добавки на основі білків молока.

Спеціальність: 181 «Харчові технології»

Освітня програма: Технологічна експертиза та безпека харчової продукції

Випускник за СВО «Магістр»: Найдьонов О. Ю.

Керівники: проф. Черно Н.К., доц. Гураль Л. С.

Ключові слова: молочний білок, лактоферин, харчові волокна, полісахаридні матриці, небезпечні чинники.

Лактоферин (ЛФ) є біологічно активним глікопротеїдом, який справляє багатогранну фізіологічну дію на організм людини завдяки притаманним йому антиоксидантній, антибактеріальній, протизапальній та іншим активностям. ЛФ є представником системи неспецифічного імунітету, регулює функції імунокомпетентних клітин і належить до білків гострої фази запалення. ЛФ має сильну противірусну дію проти широкого спектру ДНК та РНК вірусів.

ЛФ грає особливу роль у шлунково-кишковому тракті людини. Дослідження вказують, що ЛФ стимулює залежну від концентрації проліферацію та диференціювання епітеліальних клітин кишечника, і, отже, впливає на масу, довжину кишки та експресію епітеліальних травних ферментів. Однак молекула ЛФ розпадається під дією травних ферментів шлунково-кишкового тракту, тому його біодоступність досить обмежена.

Зазначене вище робить актуальним розробку способу стабілізації ЛФ шляхом комплексоутворення з препаратами харчових волокон та окремими некрохмальними полісахаридами.

Мета кваліфікаційної роботи – визначення перспективи отримання білкового продукту поліфункціональної дії на основі ЛФ, стабілізованого полісахаридними матрицями.

У першому розділі кваліфікаційної роботи узагальнили дані літературних джерел щодо відомостей про харчові джерела ЛФ, будови його молекули, фізико-хімічні та біологічні властивості, методи стабілізації та галузі використання.

Другий розділ присвячено процесу розробки схеми дослідження та пошуку методів проведення досліджень.

У третьому розділі наведено власні експериментальні дані щодо обґрунтування способів іммобілізації білкового продукту ЛФ.

Четвертий розділ присвячено технологічним основам виробництва стабілізованого ЛФ та проведенню експертизи його виробництва. На основі аналізу небезпечних чинників розроблено план НАССР виробництва.

У п'ятому і шостому розділі визначені шляхи організації охорони праці та навколишнього середовища, розраховано техніко-економічне обґрунтування ефективності дослідження та впровадження його у виробництво відповідно.

Об'єкт дослідження: стабілізовані препарати білка.

Предмет дослідження: білковий продукт із включенням ЛФ, харчові волокна чорнозерної пшениці, некрохмальні полісахаридні матриці.

Наукова новизна одержаних результатів визначається тим, що в роботі вперше розроблено спосіб отримання поліфункціонального харчового продукту з включенням ЛФ.

Практична цінність визначається розробленням технологічних основ виробництва стабілізованого ЛФ та встановленням небезпечних чинників його виробництва (НАССР-план).

Робота обсягом 102 сторінки складається із вступу, 6 розділів, загальних висновків, списку використаних літературних джерел, що включає 57 найменувань (6 сторінок), 9 рисунків (9 сторінок), 34 таблиць (39 сторінок).

Зміст

ВСТУП.....	6
РОЗДІЛ 1 ЛАКТОФЕРИН – ПЕРСПЕКТИВНА СКЛАДОВА ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ПРОДУКТІВ ХАРЧУВАННЯ.....	9
1.1. Загальний хімічний склад молока.....	9
1.2. Білки молока.....	11
1.2.1. Казеїн.....	11
1.2.2. Сироваткові білки.....	13
1.2.2.1 Лактоальбумінова фракція.....	14
1.2.2.2 Імуноглобуліни.....	17
1.2.2.3 Сироватковий альбумін.....	19
1.2.2.4 Лактоферин.....	21
ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 1.....	31
РОЗДІЛ 2 ОБ’ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	32
2.1. Об’єкти досліджень.....	32
2.2. Визначення білка.....	34
2.2.1. Імобілізація сироваткових білків на полісахаридних матрицях..	34
2.2.2. Характеристика іммобілізованого білка.....	35
2.3. Методи дослідження полісахаридної складової.....	37
РОЗДІЛ 3 ОТРИМАННЯ СТАБІЛІЗОВАНОГО ЛАКТОФЕРИНУ ТА ЙОГО ХАРАКТЕРИСТИКА.....	38
3.1. Імобілізація білкового продукту.....	38
3.1.1. Імобілізація молочного білкового продукту з підвищеним вмістом ЛФ (БПЛФ) на препараті ХВ.....	38
3.1.2. Імобілізація БПЛФ на некрохмальних полісахаридах.....	40
ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 3.....	45

					КРМ.ХХтаЕ.1.732-03.1.1		
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Найдьонов О. Ю.			Літ.	Арк.	Акрушів
Керівник		Черно Н. К.			4		108
Керівник		Гураль Л. С.			Кваліфікаційна робота <i>ОНТУ 2023</i>		
Зав. кафедри		Капустян А. І.					

РОЗДІЛ 4. ТЕХНОЛОГІЧНІ ОСНОВИ ВИРОБНИЦТВА СТАБІЛІЗОВАНОГО ЛАКТОФЕРИНУ ТА АНАЛІЗ НЕБЕЗПЕЧНИХ ЧИННИКІВ ЙОГО ВИРОБНИЦТВА.....	47
4.1 Розробка технології виробництва стабілізованого ЛФ.....	47
4.2 Аналіз небезпечних чинників виробництва стабілізованого ЛФ.....	54
ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 4.....	67
РОЗДІЛ 5 ОХОРОНА ПРАЦІ ТА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА НА ВИРОБНИЦТВІ.....	68
5.1 Ідентифікація небезпечних та шкідливих виробничих чинників (НШВЧ), які мають найбільший вплив на працюючих.....	68
5.2 Екологічна безпечність виробництва.....	71
5.3 Охорона навколишнього середовища.....	75
РОЗДІЛ 6 ІНВЕСТИЦІЙНА ПРИВАБЛИВІСТЬ ВИРОБНИЦТВА.....	81
ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 6.....	94
ВИСНОВКИ.....	95
СПИСОК ВИКОРИСТАННЯ ДЖЕРЕЛ.....	97
ДОДАТОК А.....	103

ВСТУП

Актуальність теми. Лактоферин (ЛФ) є залізов'язуючим глікопротеїдом сімейства трансферинів, основним джерелом якого є сироватка молока. Молекула ЛФ складається з одного поліпептидного ланцюга, довжиною приблизно 700 амінокислотних залишків з молекулярною масою 80 кДа. Поліпептидний ланцюг білка розділений на дві гомологічні половини, в яких збігаються 37 % амінокислот. Гомологічні половини утворюють глобулярні долі: N-долю, яка містить N-кінець поліпептидного ланцюга (амінокислотні залишки 1-333), і C-долю, яка містить C-кінець поліпептидного ланцюга (амінокислотні залишки 345-691). Долі з'єднані між собою α -спіральною ділянкою, яка складається з 11 амінокислотних залишків.

ЛФ справляє багатогранну фізіологічну дію на організм людини завдяки притаманним йому антиоксидантній, антибактеріальній, протизапальній та іншим активностям. ЛФ є представником системи неспецифічного імунітету, регулює функції імунокомпетентних клітин і належить до білків гострої фази запалення. ЛФ має сильну противірусну дію проти широкого спектру ДНК та РНК вірусів.

ЛФ грає особливу роль в шлунково-кишковому тракті людини. Дослідження вказують, що ЛФ стимулює залежну від концентрації проліферацію та диференціювання епітеліальних клітин кишечника, і, отже, впливає на масу, довжину кишки та експресію епітеліальних травних ферментів.

Однак, для досягнення максимальної терапевтичної дії необхідно забезпечити повноцінну взаємодію ЛФ з рецепторами ентероцитів в кишечнику, що можливо тільки при повному захисті ЛФ від протеолізу, оскільки молекула ЛФ, яка складається з двох фрагментів, розпадається під дією протеолітичних ферментів шлунку і тонкого кишечника. Для вирішення задачі захисту ЛФ від деструктивної дії травних ферментів, його включають у капсули або в комплекси з різними мікро- і наноносіями, зокрема полісахаридами. Це дозволяє вивільняти ЛФ на певній відстані від дії пепсину, що розкладає ЛФ, дозволяючи йому залишатися незмінним у формі, здатній зв'язувати рецептори ЛФ кишечника (intelectin-1, LRP-1, CD91, apoE receptor) для поглинання та можливого переходу в системний

кровотік. ЛФ є продуктом GRAS (загально признаним безпечним), який в даний час використовується в як дієтична добавка.

Виходячи з викладеного вище, актуальним є обґрунтування способу стабілізації ЛФ шляхом комплексоутворення з препаратами харчових волокон та окремими некрохмальними полісахаридами.

Метою кваліфікаційної роботи є визначення перспективи отримання білкового продукту продукту поліфункціональної дії на основі ЛФ, стабілізованого полісахаридними матрицями.

Для досягнення поставленої мети здійснювали іммобілізацію ЛФ на концентраті харчових волокон, отриманих з пшеничних висівок вітчизняної чорної пшениці сорту «Чорноброва» (ХВЧП) та на низці комерційних препаратів некрохмальних полісахаридів різного походження: арабіногалактані, пектині, альгінаті натрію, агарі, ксантані, гуаровій камеді, хітозані. Для досягнення поставленої мети необхідно виконати наступні завдання:

- узагальнити дані літературних джерел щодо відомостей про харчові джерела ЛФ, особливості будови молекули глікопротеїду, фізико-хімічні та біологічні властивості, методи стабілізації та галузі використання;

- здійснити іммобілізацію молочного білкового продукту з підвищеним вмістом ЛФ (БПЛФ) на ХВЧП та низці некрохмальних полісахаридів комерційного походження;

- розробити технологічну схему виробництва стабілізованого ЛФ, провести експертну оцінку виробництва;

- провести аналіз небезпечних чинників виробництва стабілізованого ЛФ та розробити план НАССР;

- визначити шляхи організації охорони праці та навколишнього середовища при виробництві функціонального інгредієнту;

- розрахувати техніко-економічне обґрунтування ефективності дослідження та впровадження його у виробництво.

Об'єкт дослідження: стабілізовані препарати білка.

Предмет дослідження: білковий продукт із включенням лактоферину, харчові волокна чорнозерної пшениці, некрохмальні полісахаридні матриці.

Наукова новизна одержаних результатів визначається тим, що в роботі вперше розроблено спосіб отримання поліфункціонального харчового продукту з включенням ЛФ.

Практична цінність визначається розробленням технологічних основ виробництва стабілізованого ЛФ та встановленням небезпечних чинників його виробництва (НАССР-план).

Робота обсягом 102 сторінки складається із вступу, 6 розділів, загальних висновків, списку використаних літературних джерел, що включає 57 найменувань (6 сторінок), 9 рисунків (9 сторінок), 34 таблиць (39 сторінок).

РОЗДІЛ 1 ЛАКТОФЕРИН – ПЕРСПЕКТИВНА СКЛАДОВА ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ПРОДУКТІВ ХАРЧУВАННЯ

Головним постачальником лактоферину (ЛФ) як компоненту харчових продуктів оздоровчого спрямування та дієтичних добавок є молоко. Нижче у скороченому вигляді розглянуто хімічний склад молока та надано розгорнуту характеристику його білкової складової. Основну увагу сконцентровано на висвітленні будови та властивостей ЛФ, його фізіологічної дії та способів підвищення його фізіологічно функціональної активності.

1.1 Загальний хімічний склад молока

Молоко – це гетерогенна суміш, яку можна визначити як складну харчову систему, в якій жир емульгований у вигляді глобул, основний молочний білок (казеїн) і деякі мінеральні речовини знаходяться в колоїдному стані, а лактоза разом з деякими мінералами та розчинними сироватковими білками присутня у формі істинного розчину [1].

Молоко є важливим джерелом необхідних поживних речовин та харчової енергії, високоякісних білків і жирів, а також кальцію, магнію, селену, рибофлавіну, вітаміну В12 і пантотенової кислоти. Молоко та молочні продукти є багатими на поживні речовини продуктами харчування. Тваринне молоко може відігравати важливу роль у раціоні дітей у популяціях із дуже низьким споживанням жиру та обмеженим доступом до інших продуктів тваринного походження [2].

Основними компонентами молока є вода, жир, білки, лактоза (молочний цукор) та мінеральні речовини (солі). Молоко містить також незначні кількості таких речовин, як пігменти, ферменти, фосфоліпіди (речовини з жироподібними властивостями) та газу.

Коров'яче молоко складається приблизно на 87 % із води та на 13 % із сухих речовин, у тому числі жиру 3,5 %, білка 3,4%, лактози 4,8 %, мінералів (зола) 0,8 %

Молочний жир міститься у молоці як емульсія, розмір жирових кульок у коров'ячому молоці – 0,1-20 мкм, середній розмір 3-4 мкм. Жирова емульсія у молоці нестійка, чому сприяє різна щільність дисперсної фази та дисперсного

середовища, завдяки якому відбувається мимовільне відстоювання молочного жиру.

Ця емульсія стабілізована дуже тонкою мембраною, що оточує кульки і має складну структуру.

Мембрана складається з фосфоліпідів, ліпопротеїнів, цереброзидів, білків, нуклеїнових кислот, ферментів, мікроелементів (металів) та зв'язаної води. Слід зазначити, що склад і товщина мембрани є постійними, оскільки її компоненти перебувають у постійному обміні з навколишньою молочною плазмою.

Жир молока легше перетравлюється і засвоюється організмом у порівнянні з іншими жирами, служить джерелом енергії для людського організму.

Молочний жир складається з тригліцеридів (домінуючі компоненти), ді-та моногліцеридів, жирних кислот, стероїдів, каротиноїдів (зумовлюють жовтий колір жиру) та вітамінів (А, D, Е та К). Менш значущі компоненти є у незначних кількостях. Гліцериди становлять до 99 % молочного жиру. В молочному жирі найбільш широко представлені міристинова, пальмітинова, стеаринова та олеїнова кислоти [3,6].

Вітамінний та мінеральний склад молока. Молоко містить водорозчинні вітаміни тіамін (вітамін В1), рибофлавін (вітамін В2), ніацин (вітамін В3), пантотенову кислоту (вітамін В5), вітамін В6 (піридоксин), вітамін В12 (кобаламін), вітамін С і фолат. Молоко є також джерелом тіаміну, рибофлавіну та вітаміну В12. Молоко містить невелику кількість ніацину, пантотенової кислоти, вітаміну В6, вітаміну С і фолієвої кислоти і не вважається основним джерелом цих вітамінів у раціоні.

Молоко є чудовим джерелом кальцію, магнію, фосфору, калію, селену та цинку. Багато мінералів у молоці пов'язані разом у формі солей, наприклад фосфат кальцію. У молоці приблизно 67 % кальцію, 35 % магнію та 44 % фосфату є солями, зв'язаними в міцелах казеїну, а решта розчинна у фазі сироватки. Той факт, що кальцій і фосфат пов'язані як солі, зв'язані з білком, не впливає на поживну доступність ні кальцію, ні фосфату [4].

Лактоза – це дисахарид, молекула якого складається із залишків молекул двох моносахаридів – глюкози та галактози. Цей природний цукор міститься виключно у тваринному молоці, тому має назву «молочний цукор». Розщеплення (гідроліз) лактози відбувається за участю ферменту лактази, який виробляється організмом і необхідний для засвоєння лактози і, відповідно, молочних продуктів (насамперед молока). У кисломолочних продуктах лактоза міститься у менших кількостях, оскільки у процесі бродіння частково перетворюється на молочну кислоту [5].

Лактоза потрапляє в бактеріальну клітину, де піддається впливу ферментів, що розщеплюють її на галактозу та глюкозу. У свою чергу глюкоза та галактоза під впливом інших ферментів, що виробляються молочнокислими бактеріями, шляхом складних проміжних реакцій переважно перетворюються на молочну кислоту. Саме це відбувається, коли прокисає молоко – лактоза зброджується до утворення молочної кислоти [1].

Лактоза є водорозчинною і знаходиться у вигляді молекулярного розчину в молоці. При сироварінні основна частина лактози залишається розчиненою у сироватці. Випарювання сироватки при приготуванні сироваткових сирів додатково підвищує концентрацію лактози. Лактоза не така солодка, як інші цукри; наприклад, вона приблизно в 7 разів менш солодка, ніж тростинний цукор [5].

1.2 Білки молока

Молочний білок складається з двох принципово різних видів білка – казеїну та сироваткових білків. Молочні білки становлять 3-3,5 % від маси незбираного молока. При цьому казеїну у молочних білках – 76-86 %, а сироваткових білків відповідно – 14-24 %. Усереднено вважається, що в молоці 3,2 % білків, з яких 80 % – казеїн, 20 % – сироваткові білки. Цікаво відзначити, що вміст білків у грудному молоці втричі менший, ніж у коров'ячому молоці [7].

1.2.1 Казеїн

Казеїн є основним білком молока; його вміст коливається від 2,1 до 2,9 %. Елементарний склад казеїну (у %) наступний: Карбон – 53,1; Гідроген – 7,1; Оксиген – 22,8; Нітроген – 15,4; Сульфур – 0,8; Фосфор – 0,8. Він містить кілька

фракцій, що відрізняються амінокислотним складом, ставленням до іонів Кальцію та сичужного ферменту. У молоці казеїн знаходиться у вигляді специфічних частинок, або міцел, що є складними комплексами фракцій казеїну з колоїдним фосфатом кальцію.

Казеїн складається з декількох фракцій: α -, β - та γ - казеїн, кожна з яких має кілька різновидів. Фракції та їхні різновиди відрізняються амінокислотним складом, зокрема два з найбільш поширених різновидів β -казеїну, A1 та A2, відрізняються однією амінокислотою у позиції 67.

У свіжовидоєному молоці казеїн присутній у формі міцел, побудованих з казеїнових комплексів. Казеїновий комплекс складається з агломерату (скупчення) основних фракцій: α , β , γ , H-казеїнів, які мають кілька генетичних варіантів.

Всі фракції казеїну містять фосфор, на відміну від сироваткових білків. Група α_s -казеїнів має найбільшу електрофоретичну рухливість з усіх казеїнових фракцій.

α_{s1} -казеїн – це основна фракція α_s -казеїнів. Молекули α_{s1} -казеїну складаються з простого номенклатурного ланцюга, що містить 199 амінокислотних залишків. Подібно β -казеїну і на відміну від H-казеїну не містить цистин.

α_{s2} -казеїн – фракція α_s -казеїнів. Молекули α_{s2} -казеїну складаються з простого поліпептидного ланцюга, що містить 207 амінокислотних залишків. Має властивості, загальні як із α_{s1} -казеїном, і з H-казеїном. Подібно до H-казеїну і на відміну від α_{s1} -казеїну містить два залишки цистеїну:

α_s -казеїн – фракція α_s -казеїнів. Її вміст становить 10 % від вмісту α_{s1} -казеїну. Має структуру, ідентичну структурі α_{s1} -казеїну, за винятком розташування фосфатної групи.

β -казеїн, молекули його складаються з простого поліпептидного ланцюга, містять 209 амінокислотних залишків. Не має у своєму складі цистеїну і при концентрації іонів кальцію, що дорівнює концентрації, їх у молоці, нерозчинний при кімнатній температурі. Ця фракція найбільш гідрофобна завдяки високому вмісту проліну.

γ - Казеїн не є основною фракцією, а являється фрагментом β - казеїну. В молоці корів на γ - казеїн припадає близько 5% загального білка. Внаслідок дії

природного протеолітичного ферменту молока – плазміну, який специфічно розщеплює β -казеїн, утворюються $\gamma 1$ -, $\gamma 2$ і $\gamma 3$ -казеїни.

Н-казеїн – має хорошу розчинність, іони Кальцію його не зсаджують. При дії сичужного та інших протеолітичних ферментів Н-казеїн розпадається на пари – Н-казеїн, що осаджується разом з α_{s1} , α_{s2} , та Н-казеїн, який осаджується разом із β -казеїнами. Н-казеїн є фосфоглікопротеїдом: містить тривуглеводгалактозу, галактозамін і N-ацетил -нейтралінову (сіалову) кислоту.

Група U-казеїнів є фрагментами β -казеїну, що утворилися шляхом протеолізу β -казеїну ферментами молока [8].

1.2.2 Сироваткові білки

Крім казеїну молоко містить велику кількість інших білків та пептидів. Вони не утворюють частинок великого розміру, добре розчиняються у воді і, найголовніше, не коагулюють під дією молокозгортаючих ферментів і кислот при виробництві сиру або казеїну, а тому залишаються в сироватці і об'єднуються одним терміном – сироваткові білки, хоча за своїми властивостями вони значно різняться.

Сироваткові білки не згортаються також і в шлунку під дією кислих протеїназ (пепсинів та ін). Цей факт дозволяє говорити не про погану перетравлюваність сироваткових білків, а про їх особливі біологічні функції. Справа в тому, що у ссавців після пологів у молоці підвищено вміст сироваткових білків при відносно малому вмісті казеїну. Наприклад, молозиво – коров'яче молоко у перші 7–10 днів після отелення – містить у 5 разів більше білків, ніж звичайне молоко, і це збільшення забезпечується саме сироватковими білками. Початковим етапом перетравлення молока в організмі новонароджених є згортання казеїну в шлунку під дією протеїназ (в основному хімозину), а незгортаємість сироваткових білків свідчить про можливість їх засвоєння у нативному вигляді, що необхідно для прояву їх специфічних функцій. До таких функцій відносяться захист новонароджених від інфекцій у перші місяці життя, коли відбувається становлення їхньої власної імунної системи. У молозиві також підвищено вміст природних антиоксидантів – вітамінів А та Е, β -каротину, цинку, селену, які захищають

організм новонародженого від вільних радикалів та стимулюють розвиток імунітету. Аналогічні особливості складу має і жіноче молоко перші 3–5 днів після пологів. Таким чином, молозиво за рахунок свого складу, насамперед за рахунок сироваткових білків, забезпечує новонародженому пасивний імунітет.

1.2.2.1 Лактоальбумінова фракція

Лактоальбумінова фракція – це фракція термолабільних сироваткових білків, яка не осаджується з молочної сироватки при напівнасиченні сульфатом амонію. Вона представлена β -лактоглобуліном і α -лактоальбуміном і альбуміном сироватки крові.

β -лактоглобулін (β -Lg) – β -Lg є основним сироватковим білком у коров'ячому молоці, на який припадає приблизно 10–15 % від загальної кількості молочних білків і 58 % від усіх білків сироватки. Він існує у вигляді димера з молекулярною масою 36 кДа [9].

У нативному стані β -lg має переважно β -листову структуру. β -lg має велике значення для молочної промисловості, як і інші сироваткові білки, і особливо корисний для контролю текстури різноманітних харчових продуктів [11].

β -Lg відсутній у жіночому молоці, і точна біологічна функція бичачого β -Lg невідома. Він має поживну цінність, враховуючи його амінокислотний склад, але він має й інші властивості, які можуть свідчити про подальшу біологічну роль. β -Lg може відігравати роль у метаболізмі фосфатів у молочній залозі [10].

β -Lg дуже стійкий до протеолізу в нативному стані. Ця особливість свідчить про те, що його основною функцією є не харчування. Він може виконувати одну або обидві з наведених нижче функцій:

- β -Lg зв'язує вітамін А, захищає його від окислення та транспортує через шлунок до тонкої кишки, де ретинол переноситься на ретинолзв'язуючий білок, який має структуру, подібну до β -Lg. β -Lg може зв'язувати багато гідрофобних молекул, і, отже, його здатність зв'язувати ретинол може бути випадковою. β -Lg є членом сімейства ліпокалінів, які мають властивості зв'язування.

- завдяки своїй здатності зв'язувати жирні кислоти β -Lg стимулює активність ліпази, що може бути його найважливішою фізіологічною функцією.

β -Lg є найбільш алергенним білком у коров'ячому молоці, існує інтерес до виробництва сироваткових білкових продуктів без β -Lg.

β -Lg нерозчинний у воді, розчиняється лише у розведених розчинах солей. Містить вільні сульфгідрильні групи у вигляді залишків цистеїну, які беруть участь в утворенні смаку кип'яченого молока при його тепловій обробці. Стійкий до дії багатьох ферментів шлунково-кишкового тракту і, можливо, бере участь у транспорті вітаміну А і ретинолу в тонкій кишці. У людському молоці β -Lg немає. У високогідролізованих сумішах β -Lg міститься в низьких або слідових кількостях, а в частково гідролізованих сумішах його концентрація значно вища. Алергенні властивості β -Lg зберігаються навіть після термічної обробки, пастеризації молока, але зменшуються у молочнокислих продуктах у процесі ферментації (наприклад, у кефірі, йогурті) [9].

α -лактальбумін (α -La) – є другим найбільш поширеним білком у сироватці, що становить приблизно 20 % сироваткових білків. Він міститься у значній кількості в грудному молоці людини. α -La є відносно термостабільним і, як правило, має низьку гелеутворюючу здатність; однак його можна використовувати як джерело незамінних амінокислот. α -La комерційно використовується в добавках для дитячих сумішей через подібність за структурою та складом до білка жіночого молока. α -La міститься в молоці більшості ссавців, α -La корови, буйвола, вівці, кози, коня, осла, верблюда та людини містить 123 амінокислоти. Первинні структури кінського, бичачого та людського α -La відрізняються лише невеликою кількістю одиночних амінокислотних замін, у результаті чого білки мають схожі властивості [12,13]. Таким чином, бичачий α -La може бути чудовою заміною людського α -La у харчуванні немовлят. При годуванні немовлят ступінь засвоюваності білка стає критичним питанням як для забезпечення незамінними амінокислотами, так і для потенційної активності білків бичачого молока. При зниженні концентрації білка знижується вміст триптофану. Триптофан є попередником серотоніну, нейромедіатора, який регулює реакцію на стрес, ритм сну та неспання та інші фізіологічні процеси [14,15]. α -La має відносно високу частку триптофану і комерційно доступний у вигляді збагаченої сироваткової

фракції. Клінічні дослідження продеонстрували, що зниження кількості білка в дитячих сумішах у поєднанні зі збільшенням частки α -La призводить до концентрації триптофану в плазмі, подібної до концентрації у немовлят, які перебувають на грудному вигодовуванні [16]. α -La також відносно високий в інших незамінних амінокислотах, а саме лізині та цистеїні, які складають 11 % і 6 % молей від загальної кількості амінокислот в α -La, відповідно. Цистеїн є складовою трипептиду глутатіону, життєво важливого елемента неонатальної антиоксидантної системи. Він також є попередником таурину, амінокислоти, яка може відігравати певну роль у розвитку мозку.

α -La виконує особливу роль у синтезі лактози, є компонентом ферменту лактозосинтетази. Ці білки активують синтетазу лактози, яка переносить залишок галактози до молекули глюкози, утворюючи дисахарид лактозу. Таким чином, α -La відіграє важливу роль у загальному утворенні молока через виробництво та секрецію лактози.

У мономерній формі α -La міцно пов'язує іони цинку та кальцію, що зумовлює бактерицидну та протипухлинну функцію даного білка.

Молекулярна маса α -La становить 14,178 кДа, ізоелектрична точка має значення від 4,2 до 4,5. Відрізняється від β -лактоглобуліну тим, що не має у структурі вільних тіолових груп і може бути початковою точкою для ковалентної агрегації, тому чистий α -лактальбумін не утворює гель у неденатурованому стані у некислому середовищі.

На відміну від β -Lg, концентрація якого зростає зі стадією лактації, концентрація α -La в бичачому молоці зменшується в кінці лактації [12]. Це зниження його концентрації позитивно корелює зі зниженням концентрації лактози в молоці до кінця лактації.

Доведено, що α -La покращує роботу мозку та допомагає впоратися зі стресом і депресією. Оскільки α -La є білком, багатим на триптофан, дієта, збагачена α -La, збільшує співвідношення триптофану до інших великих нейтральних амінокислот, що, у свою чергу, може збільшити вміст серотоніну в мозку. Підвищення рівня серотоніну в мозку може покращити здатність справлятися зі стресом, тоді як

зниження активності серотоніну спричиняє депресивний настрій [13]. Було виявлено, що дієта, багата α -La, збільшує співвідношення триптофану/великих нейтральних амінокислот і покращує когнітивне функціонування в осіб з високим рівнем нейротизму [14,17].

1.2.2.2 Імуноглобуліни

Це антитіла, що містяться в молозиві або молоці, такі ж, як і в крові або слизових виділеннях. Вони являють собою сімейство білків з різноманітними захисними біологічними властивостями.

Імуноглобуліни є важливим компонентом імунологічної активності, що міститься в молоці та молозиві. Вони є центральними в імунологічному зв'язку, який виникає, коли мати передає пасивний імунітет потомству. Велика рогата худоба забезпечує легкодоступне збагачене імуноглобулінами молозиво та молоко у великих кількостях, що робить ці виділення важливими потенційними джерелами імунних продуктів, які можуть принести користь людям.

Превалентним імуноглобуліном у молозиві та молоці корів є IgG, тоді як первинний імуноглобулін у грудному молоці – IgA.

Усі мономерні імуноглобуліни мають однакову основну молекулярну структуру, що складається з двох ідентичних важких ланцюгів і двох ідентичних легких ланцюгів із загальною молекулярною масою приблизно 160 Кд. І важкий, і легкий ланцюги мають константні і варіабельні області, а також з'єднані між собою дисульфідними зв'язками, в результаті чого утворюється класична Y-форма молекули імуноглобуліну. Кількість і розташування дисульфідних зв'язків залежить від класу імуноглобуліну. Кожна молекула імуноглобуліну має два антигензв'язуючі сайти, які містять антигензв'язуючий фрагмент (Fab). Fab включає варіабельний амінокислотний домен. На іншому кінці молекули знаходиться константний фрагмент (Fc), який має постійну амінокислотну послідовність серед молекул того самого підкласу і який надає імуноглобуліну ідентичність окремого підкласу. Fc-область молекули – це область, яка зв'язується з певними рецепторами різних типів клітин.

Імуноглобуліни поділяються на кілька класів, включаючи IgM, IgA, IgG, IgE та IgD, а IgG, IgA та IgM є основними класами імуноглобулінів у виділеннях молочних залоз.

Імуноглобулін М (IgM) – це категорія імуноглобулінів, які з’являється, коли організм піддається дії антигену вперше (первинна інфекція). IgM має низьку специфічність і, отже, нижчу ефективність у подоланні інфекції. IgM – антитіло, що бере участь у всіх імунних реакціях. Його вміст у сироватці крові становить приблизно 4 % із усіх імуноглобулінів.

Імуноглобулін А (IgA) є основним класом імуноглобулінів, що міститься в секретах слизових оболонок і запобігає інфекціям слизової оболонки аглютинуючими мікробами. Вміст IgA становить приблизно 20 % від усіх імуноглобулінів сироватки. Молекула є мономерним білком з валентністю 2. IgA є головним антитілом слини, слізної рідини та грудного молока. У слизових плазмоцитах, які знаходяться нижче епітеліальної базальної мембрани, виробляють димери IgA, які зв’язуються між собою J-ланцюгами, як і у IgM. Оскільки IgA утворює димер, його валентність становить 4. Димер проникає у клітину, де зв’язується з рецептором, який захищає його від протеолізу травними ферментами слизових оболонок.

Існує 2 форми IgA – IgA1 і IgA2. Обидві форми зв’язуються з патогенами та нейтралізують їх дію в шлунково-кишковому тракті.

Імуноглобулін G (IgG) – найпоширеніший імуноглобулін, що становить 75 % від загальної кількості імуноглобулінів сироватки і відноситься до мономерних білків, що складається з двох важких γ -ланцюгів і двох легких ланцюгів, а її валентність дорівнює 2.

Існують чотири підкласи IgG: IgG1, IgG2, IgG3 та IgG4 – вони мають невеликі відмінності у будові Fc-фрагменту. Найважливішим у роботі IgG є його функціонування як опсоніну, тобто у значному ступені визначає антибактеріальний, противірусний, протипухлинний супротив організму.

IgG бере участь у класичному шляху активації комплекменту, що сприяє руйнації позаклітинних патогенів, наприклад, бактерій. Для внутрішньоклітинних

патогенів, таких як віруси, IgG працює спільно з натуральними кілерами для реалізації антитілозалежної клітинної цитотоксичності (АЗКЦ). Антитілозалежна клітинна цитотоксичність – це особливий механізм, за допомогою якого натуральні кілери руйнують клітини, інфіковані вірусом.

Необхідно відзначити, що IgG – єдине антитіло, яке проникає крізь плаценту; материнські IgG забезпечують захист новонародженої дитини протягом 6 місяців.

Імуноглобулін Е (IgE) – антитіло, найбільш пов'язане з алергічною та протипаразитарною активністю. Молекула є мономером з валентністю 2, а вміст імуноглобуліну в сироватці становить приблизно 0,004 %. Сприяє руйнації таких великих чужорідних агентів, як хробаки та паразити. Може викликати алергічні реакції.

Імуноглобулін D (IgD) має будову мономеру з валентністю 2 і становить менше ніж 1 % серед усіх імуноглобулінів сироватки. Його основна роль полягає у функціональному доповненні IgM, а також IgD виступає як сигнал готовності для виходу з кісткового мозку зрілих В-лімфоцитів [18,19,20].

1.2.2.3 Сироватковий альбумін

Сироватковий альбумін є найпоширенішим білком у крові, а також основним носієм вільних жирних кислот у крові. Його вміст у людському та бичачому молоці становить приблизно 10–15 % від загальної концентрації сироваткових білків.

Сироватковий альбумін – це водорозчинний аніонний глобулярний білок з молекулярною масою ~65000 Да. У структурі білка переважають кілька довгих α -спіралей, які роблять білок жорстким. Сироватковий альбумін містить 11 окремих гідрофобних зв'язуючих доменів і тому здатний одночасно переносити кілька жирних кислот.

Враховуючи, що його властивості в молоці подібні до властивостей крові, вважається, що він може не синтезуватися в молочній залозі. Натомість вважається, що сироватковий альбумін переходить з материнського кровообігу. У той час як сироватковий альбумін дійсно служить джерелом амінокислот для немовлят на грудному вигодовуванні, залишається неясним, чи виконує він інші фізіологічні функції в жіночому молоці. У крові сироватковий альбумін зв'язує багато лігандів,

включаючи жирні кислоти, мікроелементи, кальцій та інші молекули. Окрім жирних кислот, сироватковий альбумін може неспецифічно зв'язувати стероїди, тиреоїдні гормони, гемін та інші молекули.

Однак малоімовірно, що сироватковий альбумін відіграє важливу роль як зв'язувач поживних речовин, оскільки його зв'язки з лігандами є слабкими. Також відомо, що бичачий сироватковий альбумін (BSA) зв'язується з жирними кислотами, а також іншими малими молекулами.

Низький рівень сироваткового альбуміну сильно корелює з підвищенням захворюваності та смертності та може бути пов'язаний із недостатнім харчуванням. В ідеалі рівень сироваткового альбуміну повинен підтримуватися на рівні вище 4,0 г/дл. Слід зазначити, що госпіталізація була продемонстрована як коротша з вищим рівнем сироваткового альбуміну. Незважаючи на те, що сироватковий альбумін може надати інформацію щодо харчового статусу пацієнта, на нього негативно впливає, серед іншого, наявність хронічних запальних станів, захворювань печінки, підшлункової залози та нефротичного синдрому, і його слід інтерпретувати відповідно.

Як єдиний показник статусу харчування, альбумін не є дуже чутливим маркером. Насправді, при триваючому стресі, навіть за умови адекватного харчування, рівень сироваткового альбуміну не може бути відновлений до нормального рівня. Низький рівень альбуміну спостерігається при всіх станах хронічного запалення, і рівні сильно знижуються, коли системна запальна відповідь є серйозною (тобто значні опіки, важкий сепсис, закрита черепно-мозкова травма та численні травми). Розуміння фізіології альбуміну пояснює ці зміни. Зниження рівня сироваткового альбуміну в умовах травми, стресу та важкої інфекції зумовлене декількома факторами, опосередкованими цитокінами:

1. екстравазаціями молекули альбуміну в екстравааскулярний простір у результаті підвищеної проникності капілярів,
2. індуковане цитокінами зниження синтезу альбуміну в печінці,
3. збільшення розпаду альбуміну,
4. зниження вироблення печінкою внаслідок низького споживання білка.

Крім того, неліковані набряки, спричинені перевантаженням об'ємом, майже завжди проявляються рівнем сироваткового альбуміну нижче норми. Оскільки альбумін є негативним білком гострої фази, концентрація якого знижується більш ніж на 25% під час гострої фази у відповідь на інфекцію, запалення та травму, аномально низький рівень вказує на недавню наявність системної запальної відповіді, яка також спричиняє зменшення споживання з їжею, підвищення швидкості катаболізму м'якої тканини та зниження швидкості синтезу білка. Таким чином, гіпоальбумінемія виникає як наслідок системної запальної відповіді, яка потім зазвичай призводить до білкової калорійної недостатності. Низький рівень сироваткового альбуміну є фактором захворюваності та смертності [21,22].

1.2.2.4 Лактоферин

Лактоферин (ЛФ) є залізовв'язуючим глікопротеїном сімейства трансферинів, основне джерело якого це сироватка молока. Він володіє унікальним різноманіттям фізіологічних функцій у різних органах та тканинах.

ЛФ присутній у високій концентрації у різних секретах (сльозах, слині, бронхіальному секреті, соку підшлункової залози, спермі та ін.), у вторинних гранулах еритроцитів та сироватці крові, ЛФ захищає організм від бактерій, вірусів та найпростіших, а також володіє високою антиоксидантною активністю і має імуномодулюючу дію, стимулюючи проліферацію та диференціювання лімфоцитів, посилюючи продукцію протизапальних цитокінів та пригнічуючи утворення прозапальних цитокінів. В останні роки активно вивчаються ЛФ із жіночого молока та ЛФ тварин [23].

ЛФ виконує широкий спектр антимікробних та імуномодельюючих дій (рис. 1.1). ЛФ виробляється з грудним молоком і входить у першу лінію захисту організму від інфекцій, білок також захищає організм новонародженого до тих пір, поки його власного імунітету не буде для цього достатньо [24].

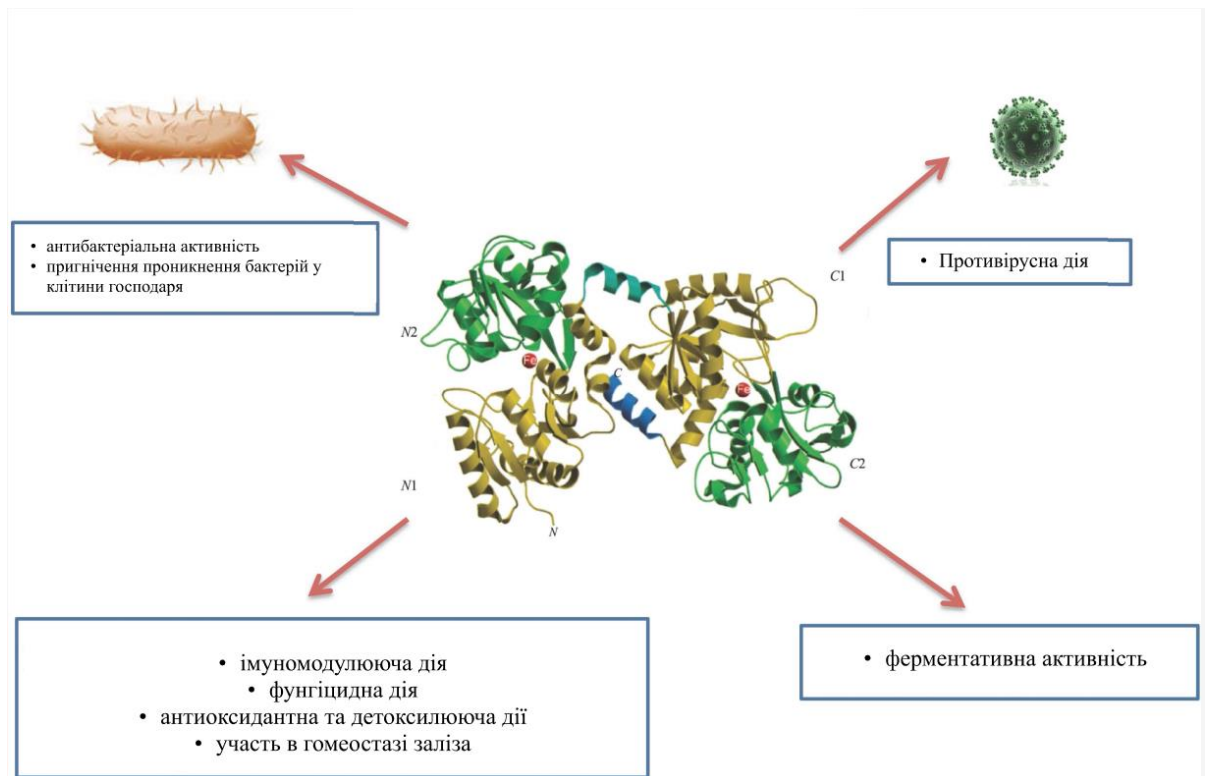


Рис 1.1 – Біологічні функції ЛФ

Молекула ЛФ складається з одного поліпептидного ланцюга, довжиною приблизно 700 амінокислотних залишків. Встановлено, що первинні структури ЛФ людини і миші мають 70 % гомології, людини і корови – 69 %, миші і корови – 63 % [25]. Первинна структура ЛФ людини має високу ступінь ідентичності з сироватковим трансферином людини (~ 59 %). ЛФ жіночого молока складається з 691 амінокислотного залишку [26]. Його молекулярна маса складає 80 кДа.

Поліпептидний ланцюг білка розділений на дві гомологічні половини, в яких збігаються 37 % амінокислот. Гомологічні половини утворюють глобулярні долі: N-долю, яка містить N-кінець поліпептидного ланцюга (амінокислотні залишки 1-333), і C-долю, яка містить C-кінець поліпептидного ланцюга (амінокислотні залишки 345-691) (рис. 1.2). Долі з'єднані між собою α -спіральною ділянкою, яка складається з 11 амінокислотних залишків (залишки 333-344).

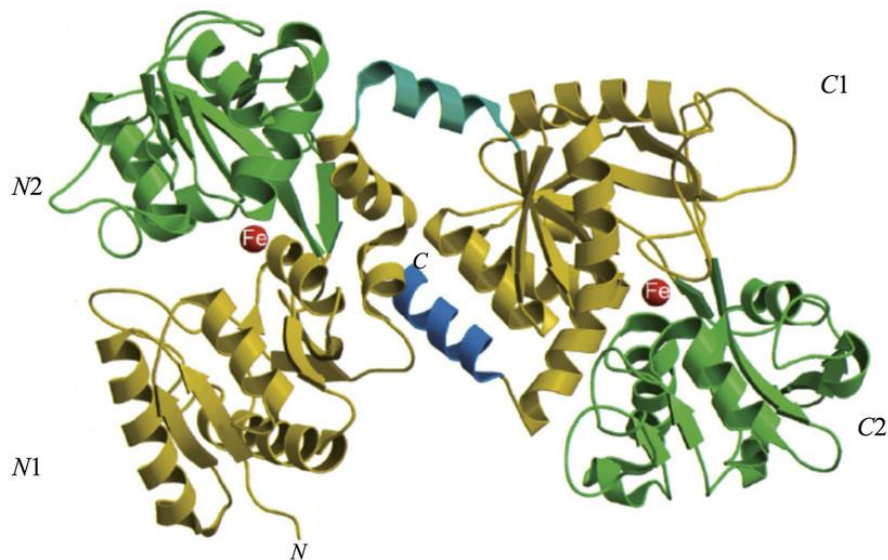


Рис 1.2 – Структура ЛФ

Кожна доля представляє собою еліпсоїд і в свою чергу складається з двох доменів, які мають подібну супервторинну структуру: нерегулярно скручені β -листи, з'єднані петлями і α -спіралями. Молекула в цілому має 43 % α -спіралей і 27 % β -листів. Структура молекули підтримується 16 дисульфідними зв'язками, 6 пар яких еквівалентні в обох долях, а 4 залишаються розташовані в С-долі [31, 32].

ЛФ може існувати у вигляді двох форм: апо- (залізоненасичений білок) і холо- (містить Fe^{3+} в активному центрі). Молекула ЛФ здатна оборотно пов'язувати два іони Fe^{3+} . Залізовв'язуючі сайти розташовані в поглибленні між доменами по одному в кожній долі, їх розмір складає приблизно 42 Ангстерма.

Кожен атом заліза координований чотирма білковими лігандами: двома атомами Оксигену фенолят-іонів Tyr-92 та Tyr-192 (і Tyr-435 та Tyr-528 в С-долі відповідно), атомами Нітрогену імідазолу His-253 (His-597) і карбоксильним Оксигеном Asp-60 (Asp-395). Кожен атом Феруму має октаедричне оточення, проте чотири білкових ліганди займають лише чотири з шести можливих позицій. Дослідження показали що дві із залишившихся позицій займають аніони CO_3^{2-} та HCO_3^- .

Аніон взаємодіє з позитивно зарядженим N-кінцевим пептидом і бічним радикалом Arg-121. Експерименти з мутагенезу показали, що заміна будь-якого з чотирьох залишків активного центру призводить до різкого погіршення зв'язування

Феруму, так само як і мутації по залишку Arg-121, який бере участь у зв'язуванні CO_3^{2-} [23,27].

Фізіологічна активність. ЛФ поширений у різних тканинах. Основною особливістю ЛФ є його здатність специфічно зв'язувати іони Феруму та деяких інших перехідних металів. До функцій, в основі яких лежить комплексоутворююча здатність ЛФ, відносять бактеріостатичну, бактерицидну, фунгіцидну, протівірусну, детоксикувальну дію, а також транспортну функцію.

ЛФ має антибактеріальну активність по відношенню до грампозитивних, грамнегативних бактерій і деяких актиноміцетів. ЛФ проявляє бактеріостатичну дію за допомогою зв'язування іонів Феруму, позбавляючи бактерії життєво важливого мікроелементу, пригнічуючи ріст мікроорганізмів і експресію їх вірулентних факторів.

Антибактеріальна дія ЛФ. Бактерицидну дію ЛФ обумовлено прямою взаємодією білка з поверхнею бактерій. В 1988 році було показано, що ЛФ пошкоджує зовнішню мембрану грамнегативних бактерій за допомогою зв'язування з ліпідом А ліпополісахариду. Позитивно заряджений N-кінець білка перешкоджає взаємодії ліпополісахариду з катіонами Ca^{2+} і Mg^{2+} бактеріальної мембрани, викликаючи вивільнення ліпиду А, з наступним пошкодженням мембрани і загибеллю бактерії. Взаємодія ЛФ з ліпополісахаридом також підсилює дію таких природних антибактеріальних агентів, як лізоцим. Дія ЛФ проти грампозитивних бактерій заснована на зв'язуванні позитивно зарядженого білка з аніонними молекулами бактеріальної поверхні, такими як ліпотейхоєва кислота. В результаті, негативний заряд клітинної стінки зменшується, сприяючи взаємодії лізоциму з пептидогліканом і розщепленню останнього.

Багато штамів здатні інфікувати людські клітини. При виявленні потенційних клітин-мішеней бактерії, використовуючи свої системи секреції третього типу, починають секретувати фактори вірулентності. Ці білки в мембрані клітини-господаря утворюють комплекс і є ключовими компонентами, що відповідають за бактеріальну інвазію. ЛФ проявляючи активність, схожу з дією серинових протеаз,

здатний розщеплювати деякі з цих білків і, таким чином, протидіяти проходженню бактерії в клітку.

Крім того ЛФ може перешкоджати прикріпленню деяких бактерій до клітки господаря. Механізм цієї дії не відомий, але припускають що вуглеводний фрагмент ЛФ пов'язує бактеріальні компоненти, пригнічуючи їх взаємодію з рецепторами клітини. ЛФ пригнічує утворення біоплівки. Це обумовлено стимуляцією специфічного бактеріального руху, який називають подригуванням. Подригування перешкоджає прикріпленню бактерії до клітки ссавця, утворення мікроколоній і, в кінцевому підсумку, перешкоджає формуванню біоплівки. Крім того, деяким штамам бактерій для утворення плівок потрібні високі концентрації заліза в середовищі. ЛФ зв'язує Ферум і тим самим перешкоджає розвитку бактерій.

Противірусна дія ЛФ. ЛФ виявляє противірусну дію відносно широкого ряду РНК і ДНК-вірусів, що інфікують людину і тварин. При цьому ЛФ або придушує стадію взаємодії вірусу з клітиною хазяїна (вірус простого герпесу, вірус гепатиту В, цитомегаловірус людини, адено-, рота- і поліовірус), або придушує процес реплікації вірусу в заражених клітинах (вірус гепатиту С і G). Білок проявляє антивірусну дію на ранній стадії інфікування [27].

Безліч експериментів було проведено для вивчення механізму противірусної дії ЛФ, однак точно він до теперішнього часу не встановлений. Інгібування ЛФ вірусної інфекції за допомогою впливу на взаємодії вірусу з клітиною хазяїна, мабуть включає молекули широко представлені на поверхні клітини. Глюкозаміноглікани, зокрема гепаран сульфат, завдяки високому ступеню сульфатування є найбільш сильними аніонами, присутніми на поверхні клітин ссавців. Наявність великого негативного заряду забезпечує зв'язування глюкозаміногліканами катіонів, білків, ферментів, факторів росту, цитокінів, хемокінів, ліпопротеїнів, а також різних патогенів та вірусів. Згідно найбільш широко прийнятому механізму ЛФ зв'язується з гепаран сульфатом, і, таким чином перешкоджає первинному контакту вірусу з клітиною і її інфікуванню (рис. 1.3).

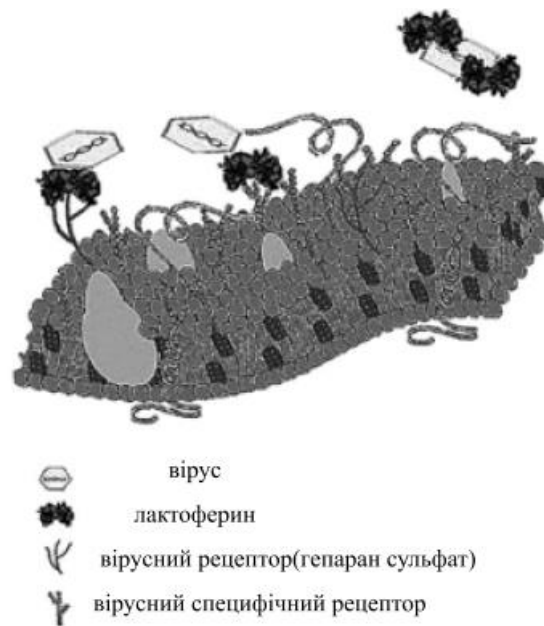


Рис 1.3 – Механізм противірусної дії ЛФ

Антиоксидантна та детоксильююча дії ЛФ. Кисень та його активні метаболіти, володіючи широким спектром фізіологічних дій, відіграють істотну роль у підтримці гомеостазу організму у нормальному стані. В ході запального процесу, а також під дією різних факторів підвищується захоплення кисню нейтрофілами людини з утворенням супероксиду за допомогою одноелектронного перенесення через NADPH-залежну оксидазну систему. *In vitro* супероксид піддається швидкому диспропорціюванню до перекису водню. Супероксид та пероксид водню вступають у каталізовану іонами Феруму реакцію з утворенням гідроксильного радикалу. За відсутності заліза або інших каталізаторів ця реакція протікає з дуже низькою швидкістю. Гідроксильний радикал є дуже реакційним агентом і може викликати деградацію нейтрофілами чужорідних мікроорганізмів, а також руйнувати тканини організму господаря. Проте *in vivo* практично все залізо знаходиться у зв'язаному вигляді з білками організму-господаря. Залежно від здатності зв'язувати залізо ці білки можуть виступати як каталізатори або інгібітори утворення гідроксильного радикалу. Показано, що ЛФ перешкоджає утворенню вільних гідроксильних радикалів [28] і, таким чином, пригнічує перекисне окислення ліпідів [29]. Це забезпечується за рахунок зв'язування білком заліза, оскільки за фізіологічних умов ЛФ знаходиться в апо-формі. Холо-форма ЛФ не виявляє антиоксидантної активності.

Однак пізніше було показано, що ЛФ може пригнічувати перекисне окиснення ліпідів, зв'язуючи залізо ділянками молекули, відмінними від активних центрів. Неспецифічним зв'язуванням металу може бути пояснена антиоксидантна дія ЛФ при молярному співвідношенні залізо : білок вище, ніж 2:1.

Крім того, дослідження останніх років показали, що антиоксидантна дія ЛФ полягає також у активації ферментів антиокислювальної системи. Встановлено, що в ході фагоцитозу різко підвищується вивільнення ЛФ з нейтрофілів у міжклітинне середовище, що, мабуть, є механізмом захисту навколишніх тканин від руйнування.

Завдяки антиоксидантній дії ЛФ перспективним є використання глікопротеїну для лікування хворих на хронічний гепатит.

Крім того, в ході нейродегенеративних захворювань трансцитоз ЛФ плазми крові через гематоенцефалічний бар'єр може перешкоджати відкладенню заліза та окислювальному стресу в мозку.

Способи підвищення фізіологічної дії ЛФ

Особливу роль ЛФ грає у шлунково-кишковому тракті людини, коли взаємодіє з рецепторами ентероцитів в кишечнику. Дослідження вказують, що ЛФ може впливати на масу, довжину кишки та експресію епітеліальних травних ферментів, взаємодіючи з рецепторами, які знаходяться на кишкових ворсинках і стимулюючи залежну від концентрації проліферацію та диференціювання епітеліальних клітин кишечника. Однак потрапляючи в шлунок при пероральному введенні, молекула ЛФ розщеплюється під дією пепсину та розпадається на N- та C-долі, що не дозволяє йому зв'язуватись з рецепторами, розташованими в кишечнику.

Імобілізація ЛФ на різноманітних полісахаридних матрицях, а також використання кишковорозчинних капсул, які розчиняються тільки при певних значеннях рН, відмінних від тих, що є у шлунку та тонкому кишечнику, а отже захищають молекулу ЛФ від дії травних ферментів, можуть використовуватись як засоби для максимального поглинання ЛФ рецепторами, розташованими в кишечнику.

Використання кишковорозчинної оболонки дозволяє вивільняти ЛФ на певній відстані від дії пепсину, що розкладає ЛФ, у шлунку, дозволяючи йому залишатися незмінним у формі, здатній зв'язувати рецептори ЛФ кишечника для поглинання та можливого переходу в системний кровотік.

У дослідженні на гризунах «поглинання» кишковорозчинного ЛФ було приблизно в 10 разів вищим, ніж у звичайного ЛФ, введеного в шлунок експериментальних тварин. З огляду на ці дослідження, вважається що ЛФ з кишковорозчинним покриттям є кращим за звичайний ЛФ щодо біодоступності та потенційного застосування для профілактики або терапії різноманітних вірусних захворювань та бактеріальних інфекцій.

Одним з перспективних підходів вирішення зазначеної проблеми є мікрокапсулювання білків шляхом пошарової адсорбції різноіменно заряджених поліелектролітів на білкових мікроагрегатах.

На даний момент отримані та вивчені комплекси ЛФ з полісахаридами різної будови (пектином, похідними хітозану – сукціоніл-, сульфат-, триметил- та ін., арабіногалактаном та декстраном). Описані ліпосоми, а також лактоферинові мікро- та наночастинки на основі хітозану, альгінатно-хітозанових сумішей, фосфату кальцію, покритого хітозаном та альгінатом.

Далі наведено приклад мікрокапсулювання ЛФ шляхом комплексоутворення з декстрансульфатом (ДС).

Мікрочастинки отримували простим змішуванням компонентів у м'яких умовах, що особливо цінно при використанні лабільних білків. Комплекси ЛФ-ДС формували змішуванням $0,5 \text{ см}^3$ розчинів ЛФ (20 мг/см^3) і поліаніону (5 мг/см^3) в $0,15 \text{ М NaCl}$ при рН 3,0-8,0. Утворені суспензії інтенсивно перемішували 20 хв, центрифугували 2 хв при 200-700 g і осад двічі відмивали в розчині без поліелектролітів з тими ж значеннями іонної сили і рН шляхом ресуспендування і центрифугування.

Отримані таким чином суспензії стабілізували додаванням $1,0 \text{ см}^3$ розчину хітозану або протаміну ($2,5 \text{ мг/см}^3$) в тому ж розчиннику, перемішували 10 хв і центрифугували 2 хв при 200 g. Осад двічі ресуспендували таким же чином і

центрифугували. Для зберігання мікрочастинки суспендували в розчині з тією ж іонною силою і рН або двічі промивали слабкокислим розчином HCl, рН 4,0, а потім ліофільно висушували.

Вміст ЛФ визначали методом Лоурі. ДС аналізували за методом Дюбуа, враховуючи наявність вуглеводів у глікопротеїні. Склад мікрочастинок аналізували після їх руйнування в лужному середовищі при рН 12,0. Ефективність включення ЛФ і ДС визначали по відношенню вмісту кожного компонента в мікрочастинках до препарату, взятого для їх отримання.

Біологічна активність ЛФ. Антиоксидантну активність ЛФ оцінювали в гомогенаті печінки мишей (BDF1, самки) інгібування перекисного окислення ліпідів. Питому антиоксидантну активність ЛФ визначали як відношення концентрації нативного глікопротеїну, що викликає інгібування на 50 %, до аналогічної концентрації глікопротеїну в досліджуваному препараті.

Кинетику вивільнення ЛФ вивчали в умовах що імітують склад рідин відділів шлунково-кишкового тракту. Було доведено, що в комплексі ЛФ-ДС зберігалось ще приблизно 40 % антиоксидантної активності глікопротеїду [30,31,32].

Практичне застосування Лактоферину. Практичне застосування ЛФ почалося в 1986 р. з виробництва японською компанією Morinaga Milk Industry дитячого харчування – «BF-L dry milk», збагаченого коров'ячим лактоферином.

Додавання ЛФ в дитяче харчування сприяло поліпшенню мікрофлори кишечника (стимулювало зростання молочнокислих бактерій *Bifidobacterium* і *Lactobacillus*), підвищенню рівня сироваткового феритину і гематокриту, зниження кількості захворювань дихальних шляхів. Крім того ЛФ перешкоджає окисленню ліпідів у дитячому харчуванні. Антиоксидантну дію ЛФ пояснювали його здатністю зв'язувати залізо, а також мідь, яка містилася у всіх типах дитячого харчування. Широко проводимі дослідження показали великий терапевтичний потенціал коров'ячого ЛФ: підтримання гомеостазу заліза, лікування недокрів'я, перешкода розвитку і метастазування пухлин, антиоксидантну дію. ЛФ сприяє зниженню титру РНК вірусу гепатиту С в крові пацієнтів і може використовуватися в комплексній терапії хронічного гепатиту С.

Створенню ліпосомальних препаратів ЛФ присвячений ряд дослідницьких робіт. Розроблено позитивно заряджені і негативно заряджені ліпосоми, що містять ЛФ людини. Негативно заряджені рН-чутливі ліпосоми краще сприяли захопленню ЛФ фібропластами, ніж позитивно заряджені. Однак позитивно заряджені ліпосоми були більш стабільні в синовіальній рідині людини і сприяли утриманню ЛФ в місці ін'єкції. Позитивно заряджені ліпосоми були обрані в якості можливого терапевтичного засобу для лікування артритів та інших запальних захворювань.

Стійкість ЛФ до протеолізу в шлунку і абсорбція в кишечнику може бути підвищена при укладанні його в кишково-розчинну оболонку. Оболонка з кислото-стійкого матеріалу, легко розчинного при нейтральних значеннях рН, повинна забезпечити захист ЛФ від деградації в шлунку і, отже, ефективну доставку інтактною білкової молекули до рецептора в кишечнику. Дія таблеток з ЛФ, покритих кишкворозчинною оболонкою, вивчалася в ході попередніх клінічних випробувань. Таблетки містили 50-100 мг коров'ячого ЛФ і могли зберігатися при кімнатній температурі більше 2 років. Через 4 години застосування 900 мг білка в таблетках, коров'ячий ЛФ був виявлений в крові пацієнта. Використання таблеток з ЛФ сприяло зниженню вмісту тригліцеридів і холестерину в крові, прискоренню основного метаболізму, зниження маси тіла (на 3-4 кг за 1-2 місяці) при прийомі 3-9 таблеток з ЛФ в день.

Адресна доставка ЛФ в кишечник. Постійне зростання числа інфекцій, стійких до дії традиційних лікарських препаратів, привертає особливу увагу до ЛФ, котрий володіє антимікробними та імуномодулюючими властивостями. Наявність в організмі людини рецепторів ЛФ уможливорює його використання в якості вектора для спрямованої доставки лікарських і діагностичних засобів.

Особливу роль глікопротеїн грає в шлунково-кишковому тракті людини. Потрапляючи в шлунок при пероральному введенні, молекула ЛФ розпадається на фізіологічно активні N- і C-долі, які пригнічують розвиток патогенної мікрофлори і стимулюють зростання біфідо- і лактобактерій, тим самим сприяючи нормалізації діяльності кишечника при різних патологічних станах. Однак для досягнення максимального терапевтичного ефекту необхідно забезпечити повноцінну взаємодію ЛФ з рецепторами ентероцитів в кишечнику, що можливо тільки при повному захисті глікопротеїну від протеолізу в шлунку і тонкому кишечнику. Для

вирішення цього завдання ЛФ включають в таблетки, вкриті розчинною в кишечнику оболонкою [33], або пов'язують в комплекси з різними мікро- і наноносіями [34].

До теперішнього моменту отримані і вивчені комплекси глікопротеїну з полісахаридами різної будови (пектином [35], похідними хітозану – сукционіл-, сульфат, тріметіл- та ін., арабіногалактаном, декстраном [36] і казеїном [37]).

У міру просування по шлунково-кишковому тракту значення рН значно змінюється: 1,0–2,0 в шлунку, 7,2-8,0 в тонкій кишці і 8,5-9,0 в товстій кишці, тому перспективним є створення комплексу ЛФ з різноманітними матрицями, що забезпечує дозоване рН-залежне вивільнення глікопротеїну в заданих умовах. Для вирішення цього завдання ЛФ включають в таблетки, вкриті розчинною в кишечнику оболонкою, або зв'язують у комплекси з різними мікро- і наноносіями. Саме тому для поліпшення стабільності ЛФ в умовах шлунково-кишкового тракту, що впливає на його біодоступність, було вирішено утворити комплекс ЛФ-полісахарид, здатних пролонгувати його дію [38].

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 1

ЛФ – це функціональний глікопротеїд, який має позитивний вплив на організм людини завдяки наявності широкої низки фізіологічних ефектів, який потребує стабілізації. Молекула ЛФ розпадається під дією травних ферментів шлунково-кишкового тракту, тому його біодоступність досить обмежена.

Виходячи з викладеного вище, актуальним є розробка способу стабілізації ЛФ шляхом комплексоутворення з препаратами харчових волокон та окремими некрохмальними полісахаридами. Для досягнення поставленої мети доцільною є іммобілізація ЛФ на концентраті харчових волокон, отриманих з пшеничних висівок вітчизняної чорнозерної пшениці сорту «Чорноброва» та на низці комерційних препаратів некрохмальних полісахаридів різного походження: арабіногалактані, пектині, альгінаті натрію, агарі, ксантані, гуаровій камеді хітозані.

РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Об'єкти досліджень

Об'єктами даних досліджень є комерційний білковий препарат з підвищеним вмістом ЛФ, харчові волокна чорнозерної пшениці сорту «Чорноброва» (ХВЧП), а також наступні полісахаридні препарати: арабіногалактан, пектин, альгінат натрію, агар, ксантан, гуарова камедь та хітозан.

Дослідження були проведені в 2022-2023 рр. в ОНТУ на кафедрі харчової хімії та експертизи. Схема проведення дослідження наведена на рис. 2.1.

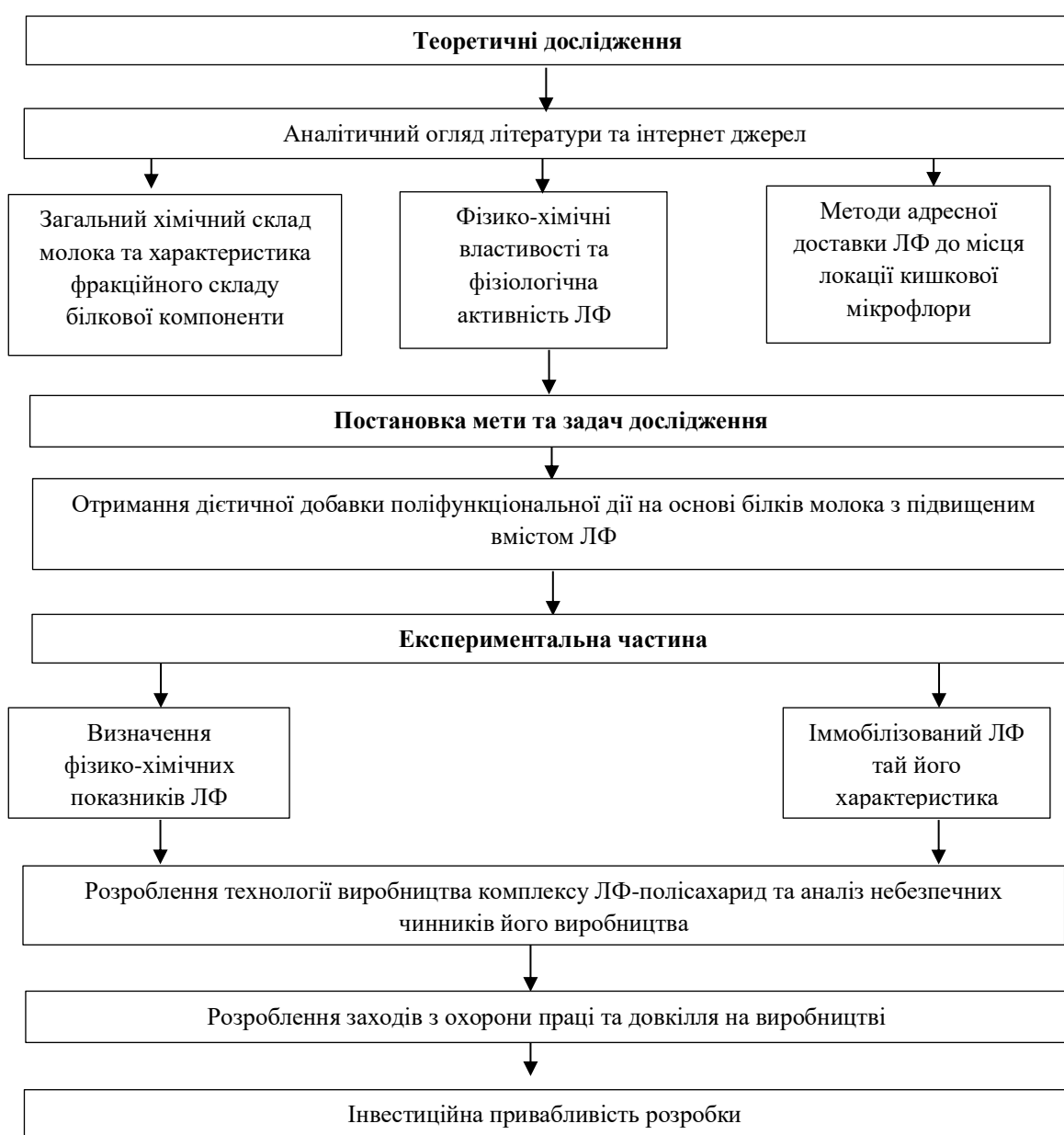


Рисунок 2.1 – Схема дослідження

У дослідженнях використовували:

- препарат ЛФ ТМ «Jarrow Formulas» виробництва США (рис. 2.2);



Рис 2.2 – Препарат ЛФ, який використовувався у дослідженні

- дертьові пшеничні висівки пшениці вітчизняного чорного сорту «Чорноброва». Пшениця цього сорту відрізняється високим вмістом легкорозчинних білків, антиоксидантів, вітамінів, а також антоціанів. Вуглеводний комплекс зрілої чорнозерної пшениці (близько 65-75 % маси сухого зерна) складається з моно- та олігосахаридів, крохмалю та некрохмальних полісахаридів – фруктанів, целюлози, геміцелюлоз;

Низку комерційних препаратів некрохмальних полісахаридів різного походження:

- арабіногалактан ТМ «Vital Nutrients», отриманий із кори серцевини західної модрини (*Larch occidentalis*);
- пектин яблучний (виробник «L7Pectin»);
- альгінат натрію (ТОВ «Харківпромхім»), отриманий з альгінової кислоти, яку виготовляють з червоних і бурих водоростей;
- агар «Pischevik» отримують шляхом екстрагування з червоних та бурих водоростей (*Gracilaria*, *Gelidium*, *Ceramium* та ін.);
- ксантан ПП «Система Оптимум»;
- гуарова камедь ТМ «Клебріг» отримується в результаті переробки плодів зернобобової культури гуан;
- хітозан «HimLine» виготовляється шляхом переробки панцирів ракоподібних.

2.2 Визначення білка

Білок визначали за методом Лоурі. Загальна концентрація білка визначається зміною кольору розчину зразку пропорційно концентрації білка, яку потім можна виміряти за допомогою колориметричних методів.

Для визначення масової частки білка використовували наступні реактиви: розчин бичого сироваткового альбуміну (БСА), розчин білка, реактив Фоліна.

Перед проведенням аналізу готували наступні реактиви:

- реактив А: 2 % розчин Na_2CO_3 в 0,1н NaOH ;
- реактив Б: 0,5 % розчин $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ в 1 % розчині К-тарtrate;
- реактив В готується додаванням 50 см^3 реактиву А до 1 см^3 реактиву Б;
- реактив Д: 1 см^3 реактив Фоліна-Чокалтеу (Ф-Ч) + 1 см^3 дис. H_2O (розведення 1:1).

Методика визначення полягає в наступному: до 1 см^3 розчину білка додавали 5 см^3 реактиву В. Суміш перемішували, через 10 хв вносили $0,5 \text{ см}^3$ реактиву Д, витримували 30 хв.

Масову частку білка визначали за допомогою калібрувального графіку, представленого на рис. 2.3. Калібрувальну криву будували із робочих розчинів, які отримували шляхом розведення стандартного розчину БСА.

Вимірювання проводилось на спектрофотометрі при довжині хвилі 750 нм в кюветах товщиною 10 мм; контрольним зразком виступала дистильована вода [39, 40].

2.2.1 Імобілізація сироваткових білків на полісахаридних матрицях

Для отримання комплексу ЛФ–ХВЧП матрицю (ХВЧП) просочували водним розчином ЛФ з ГМ 12; при цьому співвідношення харчові волокна : ЛФ становило 100:1, 50:1, 25:1, 12:1 відповідно. Отримані продукти висушували за температури $40 \text{ }^\circ\text{C}$. Відповідні розрахунки показують, що вміст ЛФ у використуваному білковому продукті становить 57,26 %. Тобто, виходячи з рекомендованої добової потреби ЛФ, яка становить 250 мг, людині необхідно буде вжити 25 г, 12,5 г, 6,3 г, 3 г комплексів даного білка з ХВПВ.

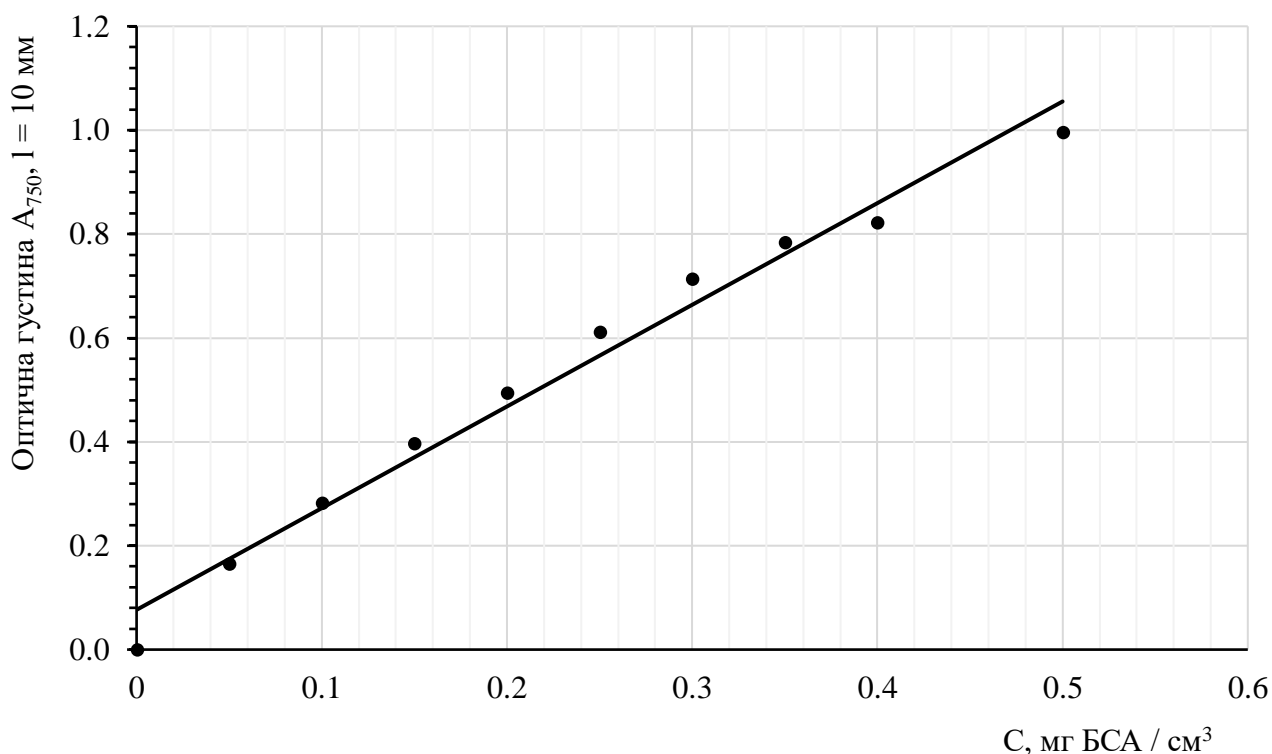


Рис. 2.2 – Калібрувальний графік для визначення концентрації білка за методом Лоурі

Наступним етапом було проведення іммобілізації білка на полісахаридних препаратах: арабіногалактані, пектині, альгінаті натрію, агарі, ксантані, гуаровій камеді, хітозані. Для цього до 1 г полісахаридів додавали дистильовану воду з різними гідромодулями, оскільки вони мають різну здатність до гідратації, а також до загуснення і гелеутворення – арабіногалактан (ГМ 20), пектин (ГМ 30), альгінат натрію, агар, ксантан (ГМ 49), гуарова камедь (ГМ 59). Хітозан розчиняли в 2 % розчині оцтової кислоти з ГМ 50. При постійному перемішуванні до них поступово додавали по 5 см³ водного розчину препарату ЛФ, де концентрація ЛФ дорівнювала 16 мг/см³. Потім суміші ліофільно сушили. У кожному з отриманих комплексах містилось 80 мг ЛФ (масова частка 8 %), а співвідношення полісахарид : ЛФ становило 12,5 : 1.

2.2.2 Характеристика іммобілізованого білка

Дослідження стабілізованого білка в штучних умовах шлунково-кишкового тракту ШКТ (*in vitro*)

Принцип методу. Аналіз заснований на моделюванні фізіологічних процесів перетравлення білка в ШКТ спочатку в кислому середовищі пепсином, а потім у лужному середовищі трипсином. Кількість перетравного білка визначається спектрофотометричним методом.

Перед проведенням аналізу спочатку готують наступні розчини:

- 15 см³ розчину пепсину ($C = 1 \text{ мг/см}^3$ в 0,02н HCl);
- 15 см³ розчину трипсину ($C = 1 \text{ мг/см}^3$ 0,02н NaHCO₃);
- 2 н розчин NaOH;
- 0,02 н розчин HCl;
- 0,02 н розчин NaHCO₃.

Хід роботи. Зразки поміщали у колби на 100 см³, до кожного зразка додавали 15 см³ розчину пепсину. Зразки поміщали у термостат при $t = 37 \text{ }^\circ\text{C}$ на 3 години, періодично перемішуючи. По закінченню 3-х годин зразки нейтралізували додаванням 0,4 см³ розчину 2 н NaOH та вносили 15 см³ розчин трипсину. Лужний гідроліз відбувався впродовж наступних 3-х годин. Після закінчення 3-х годин зразки виймали з термостату та фільтрували у пробірки. В окремі пробірки вносили по 5 см³ досліджуемого продукту та додавали 2-3 см³ 25 % три хлороцтової кислоти ТХУ (випадають пластівці білків), витримували 15-20 хв при $t = 30 \text{ }^\circ\text{C}$ для формування осаду. Далі відбирали по 1 см³ речовини від кожного досліджуваного розчину. До 1 см³ речовини додавали по 5 см³ 0,5 н розчину Na₂CO₃, швидко перемішували, залишали на 10 хв, після чого додавали по 1 см³ реактиву Фоліна та іще витримували 30 хв.

У модельній системі пепсин-трипсин білки препарату ЛФ гідролізується травними ферментами з накопиченням низькомолекулярних продуктів гідролізу, які не осаджуються під дією ТХУ (у розрахунку на тирозин). Масову частку продуктів гідролізу білка визначали за калібрувальним графіком, побудованим по тирозину (рис. 2.3).

Вимірювання проводилось на спектрофотометрі при довжині хвилі 656 нм у кюветах товщиною 10 мм; контрольним зразком виступала дистильована вода зі всіма доданими реактивами замість досліджуваного розчину.

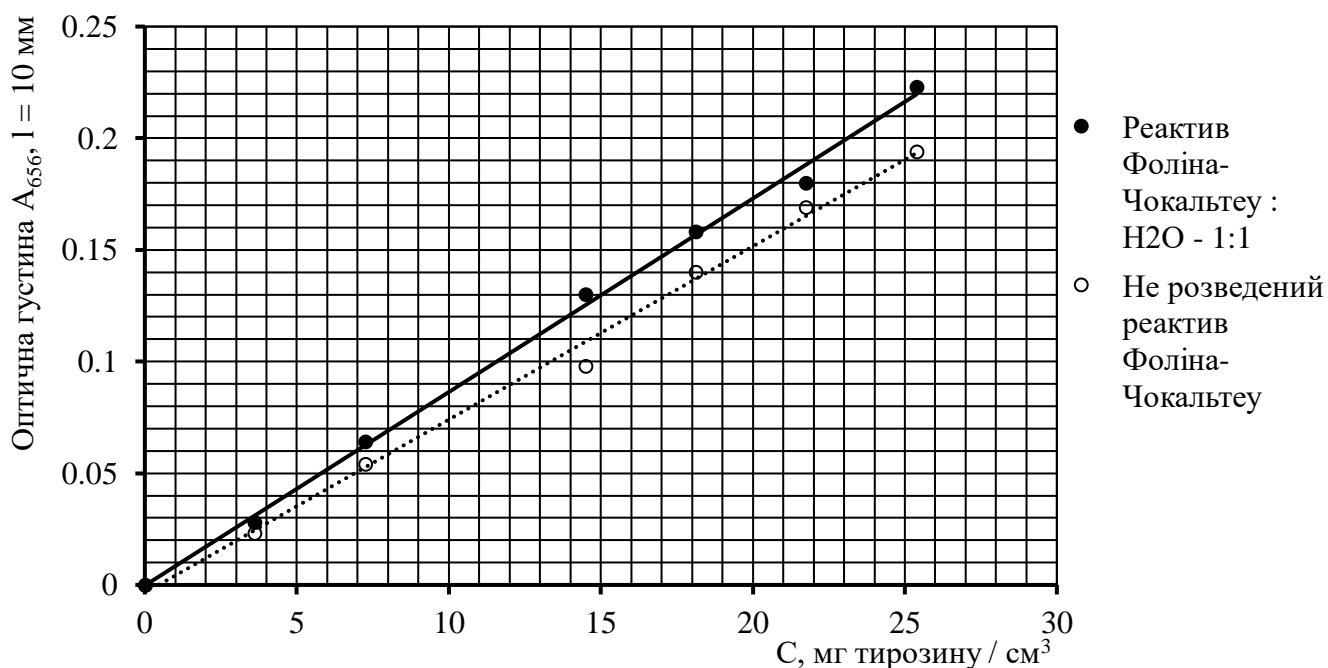


Рис. 2.3 – Калібрувальний графік, побудований по тирозину, для визначення низькомолекулярних продуктів протеолізу

2.3 Методи дослідження полісахаридної складової

ХВ отримували, користуючись методикою, описаною в [41], яка передбачає оброблення висівок 1,7 % розчином H_2SO_4 (ГМ 10), термообробку ($t = 100$ °С, $\tau = 1$ год) і охолодження ($t = 40$ °С, $\tau = 10$ -15 хв) реакційної суміші при перемішуванні, нейтралізацію суміші до рН = 5-6 (об'ємне співвідношення розчину кислоти: 30 % $\text{NaOH} - 25 : 1$), декантацію та фільтрування, суспендування твердого залишку у воді (промивання до рН ≈ 7), центрифугування ($n = 4000$ об/хв, $\tau = 15$ хв), сушіння твердого залишку (ХВЧП).

Масову частку легкогідролізованих полісахаридів (ЛГП) визначали за редуруючою здатністю розчинів, отриманих після гідролізу ХВЧП 2 % розчином HCl , масову частку важкогідролізованих полісахаридів (ВГП) – за редууючою здатністю розчинів, отриманих після гідролізу залишку (після видалення ЛГП) 80 % розчином H_2SO_4 , концентрацію редууючих речовин (моносахаридів) – мікрометодом Хагедорна-Ієнсена, масову частку фенольних речовин – спектрофотометричним методом у 70 % етанольних екстрактах з 1 % HCl з реактивом Фоліна-Чокальтеу при $\lambda = 725$ нм у перерахунку на галову кислоту.

РОЗДІЛ 3. ОТРИМАННЯ СТАБІЛІЗОВАНОГО ЛАКТОФЕРИНУ ТА ЙОГО ХАРАКТЕРИСТИКА

3.1 Імобілізація білкового продукту

Згідно з даними літературних джерел, як вже відмічалось у розділі 1, різноманітні некрохмальні полісахариди можуть чинити стабілізаційну дію на білки, у тому числі на ЛФ. Виходячи з цього, була здійснена спроба стабілізувати препарат молочного білка шляхом його імобілізації на харчових волокнах (ХВ). Як ХВ розглядали комплекси некрохмальних полісахаридів, зокрема ХВ чорнозерної пшениці, а також окремі представники біополімерів цієї категорії.

3.1.1 Імобілізація молочного білкового продукту з підвищеним вмістом ЛФ (БПЛФ) на препараті ХВ

Відомо, що ХВ впливають на функції травного тракту різними шляхами. Так як у шлунково-кишковому тракті відсутні ферменти, що розщеплюють волокна, останні досягають товстого кишківника в незмінному вигляді. Бактерії, які містяться в ньому, мають ферменти, здатні метаболізувати волокна. За рахунок ферментації бактерії отримують енергію для розмноження та створення нових клітин. Завдяки водопоглинальній здатності ХВ стимулюють моторну діяльність кишечника. Позитивна фізіологічна дія ХВ на організм людини не обмежується ефектами, пов'язаними з функціонуванням травного тракту – ХВ також виконують функції ентеросорбентів, зв'язуючи токсичні речовини та радіонукліди та виводячи їх з організму.

Найбільш важливі фізіологічні функції ХВ обумовлені їх пребіотичними властивостями, які пов'язані з участю у формуванні живильного середовища для розвитку нормальної кишкової мікрофлори, насамперед біфідобактерій. Пребіотики – функціональні харчові інгредієнти у вигляді речовини або комплексу речовин, які забезпечують при систематичному вживанні оптимізацію мікроекологічного статусу організму людини за рахунок вибіркової стимуляції росту та (або) біологічної активності нормальної мікрофлори травного тракту [42].

В експерименті використовували ХВ чорнозерної пшениці (ХВЧП), які згідно з результатами досліджень, містять 72,1 % полісахаридної складової, що

представлена геміцелюлозами та целюлозою (38,1 та 37,4 % відповідно). У складі препарату присутній лігнін – біополімер фенольної природи, а також низькомолекулярні фенольні компоненти, що складає 160мг/100г препарату ХВЧП у перерахунку на галову кислоту. Згідно даних [41] геміцелюлозна компонента ХВЧП може бути представлена арабінами і, головним чином, ксиланами. Останні вірогідно, є гетерополісахаридами – гетероксиланами, зокрема арабіноксиланами. Серед низькомолекулярних фенольних речовин значним є вміст флавоноїдів.

Імобілізацію здійснювали шляхом просочування ХВЧП водним розчином білкового компоненту з ГМ 12. У дослідженнях варіювали гідромодуль (табл 3.1). Отримані суміші сушили за температури 40 °С, щоб зберегти фізіологічну дію ЛФ.

Таблиця 3.1 – Умови отримання комплексів БПЛФ–ХВЧП

№ зразку	Матриця	V _{вод р-ну ЛФ}	ГМ
1	ХВЧП	1	100
2		1	50
3		1	25
4		1	12

Згідно даних, наведених у розділі 1, ЛФ відіграє важливу фізіологічну роль в кишківнику, що зумовлює доцільність його захисту від руйнівної дії протеолітичних ферментів у верхніх відділах ШКТ і адресної доставки ЛФ до локації проявлення ним максимальної фізіологічної дії. З метою прогнозування поведінки ЛФ у складі досліджуваного комплексного препарату БПЛФ–ХВЧП здійснили визначення ступеню ферментації білкової складової *in vitro* у модельній системі пепсин-трипсин.

Результати експериментів показали, що у порівнянні з ЛФ, який знаходиться у складі вихідного білкового продукту, іммобілізована форма ЛФ отриманого при використанні гідромодулю 12 в умовах досліду практично не здатна розщеплюватись травними ферментами, оскільки ступінь його ферментолізу

зменшився на 97,1 %. Слід відмітити, що препарати, отримані з використанням інших ГМ, майже не відрізнялись від нього за здатністю до ферментолізу.

3.1.2 Імобілізація БПЛФ на некрохмальних полісахаридах

Наступним етапом було проведення імобілізації ЛФ на низці комерційних препаратів полісахаридів різного походження: хітозан, пектин яблучний, ступінь естерифікації якого дорівнював 68 %, альгінова кислота (у вигляді її натрієвої солі), агар, ксантан, гуарова камедь, арабіногалактан.

Метою даного етапу дослідження було визначення ефективності захисної дії кожної з розглянутих матриць на ступінь ферментолізу імобілізованого білка, зокрема ЛФ, травними ферментами. Нижче наведено дані щодо природи використовуваних матриць.

Пектин – полісахарид рослинного походження. За хімічною будовою природні пектини – це високомолекулярні сполуки, головний ланцюг яких побудований із залишків D-галактопіранозилуронової кислоти, з'єднаних α -(1→4)-глікозидними зв'язками з включенням одного або двох залишків α -L-рамнози, які є вузлом вигину молекули пектину. У бічних відгалуженнях молекули присутні залишки нейтральних моносахаридів L-арабінози, D-галактози, D-ксилози тощо. Частина карбоксильних груп залишків галактуронової кислоти естерифіковані метиловим спиртом. Цей полісахарид характеризується гелеутворювальною, комплексоутворювальною здатністю та широко використовується у харчовій промисловості [43,50].

Гуарову камедь (гуаран) отримують з насіння гуару Основним полісахаридом гуарової камеді є галактоманан – нейтральний полісахарид, головний ланцюг якого побудований із залишків манопіранози, які сполучаються між собою (1→4)-глікозидними зв'язками, до них (1→6)-зв'язками приєднані бічні ланцюги, які складаються з одноодиничних залишків α -D-галактопіранози. Гуарову камедь (гуаран, Guar Gum, E412) використовують у харчовій промисловості як стабілізатор-загусник або речовину-структуратор [44,50].

Арабіногалактан. Розрізняють арабіно-4-галактани та арабіно-3,6-галактани. Найпоширенішим представником арабіно-3,6-галактанів є арабіногалактан

хвойних порід дерев, зокрема деревини модрина. Саме цей полісахарид використовували в даному дослідженні. Його макромолекула характеризується високорозгалуженою структурою. Головний ланцюг макромолекули арабіногалактанів модрина західної *Larix occidentalis* і сибірської *Larix sibirica* побудовано із залишків D-галактопіранози, з'єднаних між собою β -(1→3)-глікозидними зв'язками. У положенні O-6 до головного ланцюга приєднуються бічні відгалуження із залишків галактопіранози, до яких приєднуються (1→3)- і/або (1→5)-зв'язані ланки L-арабінофуранози та L-арабінопіранози, а також залишки уронових кислот, переважно глюкуронової кислоти (1,8–13,7 %). Арабіногалактану притаманний широкий спектр біологічної активності. Це дозволяє застосовувати його як нутрицевтик у щоденній дієті. У харчовій промисловості він використовується як загусник та стабілізатор харчових емульсій, а також як гелеутворювальний агент [45,50].

Альгінова кислота – водоростевий гетерополісахарид, її макромолекули складаються з двох структурних одиниць: залишків β -D-мануранонової кислоти і α -L-гулуранонової кислоти, сполучених (1→4)-глікозидними зв'язками. Співвідношення між мономерами змінюється в широких межах залежно від сировинного джерела. Вільні альгінові кислоти погано розчиняються у холодній воді. Натрієві та калієві солі альгінових кислот легко розчиняються у воді з утворенням високов'язких розчинів. Альгінати широко застосовуються в харчовій промисловості як безпечні загусники і наповнювачі, стабілізатори суспензій і емульсій, гелеутворювачі. Альгінова кислота і альгінати широко застосовуються у медицині. Солі альгінової кислоти є ефективними ентеросорбентами, які зв'язують і виводять з організму радіонукліди та іони важких металів. Альгінати здатні зв'язувати надмірну кількість особливого класу імуноглобулінів (E), які спричиняють розвиток гострих алергічних реакцій і захворювань. Солям альгінової кислоти притаманні антацидні властивості (знижують агресивність шлункового соку) [46,50].

Агар – це полісахарид, який накопичується у клітинних стінках агарофітних водоростей. Агар являє собою суміш двох полісахаридів – агарози та агаропектину.

Вони належать до сульфатованих полісахаридів і відрізняються вмістом сульфогруп. Агароза – лінійний полісахарид регулярної структури, побудований із залишків β -D-галактопіранози і 3,6-ангідро- α -L-галактопіранози, з'єднаних (1→4)- β і (1→3)- α -зв'язками, що чергуються. Агаропектин є сумішшю кислих полісахаридів складної будови, аналогічної агарозі. Відмінністю є заміна частини залишків 3,6-ангідро- α -L-галактози залишками 6-сульфату- α -L-галактози, наявність залишків сульфатної кислоти, з'єднаних естерними зв'язками з різними групами ОН. Агар – це харчова добавка, яка використовується як абсолютно безпечна. Агар є ефективним гелеутворювачем і широко застосовується у різних сферах харчової промисловості [47,50].

Ксантан – екзополісахарид, отриманий шляхом ферментації бактерії *Xanthomonas campestris*. Головний ланцюг ксантану (кор) побудований подібно до целюлози – із залишків β -D-глюкопіранози, які сполучаються між собою (1→4)-зв'язками. Відгалуження кору являють собою трисахаридні фрагменти, що містять ланки β -D-манопіранози, β -D-глюкопіранозилуронової кислоти і α -D-манопіранози. Останні, в свою чергу, сполучені з піруватними (залишки піровиноградної кислоти) й ацетильними групами. Карбоксили глюकोпіранозилуронової кислоти і піруватних груп надають молекулам ксантану аніонного характеру. Ксантан (ксантанова камедь, E415) є загусником, стабілізатором, емульгатором [48,50].

Хітозан – лінійний гетерополісахарид, побудований із залишків 2-аміно-2-дезоксі- β -D-глюкопіранози, сполучених β -(1→4)-глікозидним зв'язком. У харчовій промисловості його застосовують як загусник та плівкоутворювач, в оздоровчому харчуванні – як дієтичну добавку. Рекомендовані добові дози вживання хітозану становлять 0,8–1,6 г [49,50].

При виконанні дослідів використовували полісахаридні матриці масою 1 г кожна. БПЛФ розчиняли у відповідному розчиннику (дистильована вода для всіх полісахаридів за виключенням хітозану, який розчиняли у 2 % оцтовій кислоті) таким чином, щоб концентрація ЛФ дорівнювала 16 мг/см³. Величину гідромодулю підбирали в кожному експерименті окремо, враховуючи різну водопоглинальну

здатність кожного з полісахаридів, таким чином, щоб матриця повністю просочувалась розчином білка.

Отримання цих препаратів складалося з низки кроків:

1. Отримання гідратованого полісахариду (матриці). Для цього до зразків полісахаридів з однаковою масою додавали розчинник, об'єм якого визначався здатністю кожного полісахариду до гідратації. Як розчинник у всіх випадках використовували воду, окрім досліду з хітозаною матрицею, до якої додавали 2 % розчин оцтової кислоти, враховуючи нерозчинність хітозану у воді. Величини використовуваних ГМ наведено у табл. 3.2.

Таблиця 3.2 – Умови отримання іmobilізованих препаратів

Полісахариди	m полісах, г	V розчинника	ГМ	V водн. р-ну, мл	m _{лф} , мг
Хітозан	1,01	50	50	5	80
Пектин	1,00	30	30	5	80
Альгінат Натрію	1,00	49	49	5	80
Гуарова Камедь	1,00	59	59	5	80
Агар	1,00	49	49	5	80
Ксантан	1,01	49	49	5	80
Арабіногалактан	1,00	20	20	5	80

2.

3. Суміщення гідратованих зразків з рівними об'ємами і водного розчину БПЛФ однакової масової концентрації.

4. Висушування.

В усіх отриманих комплексах масова частка ЛФ складала 80 мг, а співвідношення полісахарид : ЛФ становило 12,5 : 1.

Ферментабельність отриманих комплексів БПЛФ з полісахаридною складовою досліджували у модельній системі *in vitro*, як було описано вище (рис. 3.1).

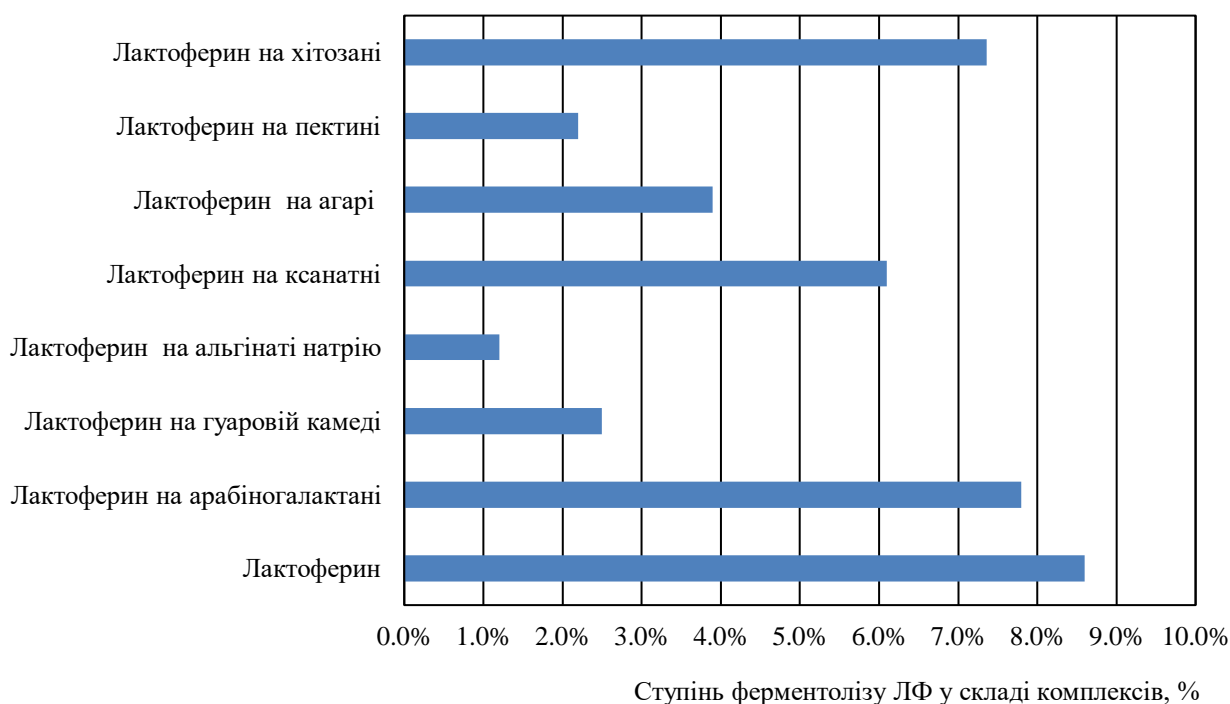


Рис. 3.1 – Порівняльна характеристика ступеня ферментолізу ЛФ у складі БПЛФ та іммобілізованих препаратів

Результати даного експерименту свідчать про наступне:

- у порівнянні з вихідним препаратом, ферментабельність ЛФ іммобілізованого на альгінаті натрію, в 7,2 рази менша, ніж у складі вихідного БПЛФ;
- ферментабельність ЛФ у складі комплексу з пектином у 3,9 разів менша за таку у складі БПЛФ;
- ферментабельність ЛФ у складі комплексу з гуаровою камеддю у 3,5 разів менша за таку у складі БПЛФ;
- ферментабельність ЛФ у складі комплексу з агаром у 2,2 рази менша за таку у складі БПЛФ;
- ферментабельність ЛФ у складі комплексу з ксантаном в 1,4 рази менша за таку у складі БПЛФ;
- ферментабельність ЛФ у складі комплексу з хітозаном в 1,1 раз менша за таку у складі БПЛФ;
- ферментабельність ЛФ у складі комплексу з арабіногалактаном в 1,2 рази менша за таку у складі БПЛФ.

На рис 3.1 представлені дані, що ілюструють збільшення стійкості ЛФ, іммобілізованого на полісахаридних матрицях, які відрізняються за моносахаридним складом, типом та конфігурацією глікозидних зв'язків.

Аналіз отриманих даних, щодо іммобілізації ЛФ на полісахаридних матрицях показує, що усі застосовані біологічно активні полісахариди справляють стабілізуючу дію на ЛФ, причому ступінь стабілізації ЛФ коливається у широких межах. Найбільш ефективною матрицею виявився альгінат натрію, найменш ефективною – хітозан. Щодо механізму комплексоутворення, то це питання залишається відкритим, для його з'ясування потрібні додаткові детальні дослідження. Вірогідно, що у випадку використання полісахаридів, що містять карбоксильні або аміногрупи, може, зокрема, мати місце комплексоутворення шляхом електростатичної взаємодії. Хоча цей механізм, скоріш за все, є не єдиним шляхом утворення комплексу. Паралельно може відбуватися абсорбція білкової молекули, її включення в гель, можуть реалізовуватися гідрофобні взаємодії і т.п.

Якщо порівнювати дані, отримані при іммобілізації ЛФ на ХВЧП і результати комплексоутворення ЛФ з полісахаридами, то очевидним стає пріоритетне положення першого варіанту іммобілізації, якщо мова йде лише про захист ЛФ від руйнівного впливу травних ферментів. У той же час при виборі носія, що стабілізує ЛФ, треба буде враховувати специфіку матриці, співставляти увесь спектр притаманних кожній з них фізіологічних ефектів і обирати препарат, якій у більшій мірі відповідає меті його застосування.

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 3

1. Розроблено спосіб іммобілізації БПЛФ шляхом комплексоутворення з препаратами ХВ та окремими некрохмальними полісахаридами.

2. Доведено, що іммобілізація БПЛФ на концентраті ХВЧП та препаратах окремих полісахаридів дозволяє підвищити стійкість ЛФ до дії травних ферментів, що сприятиме пролонгації його експозиції у шлунково-кишковому тракті людини та доставці у зону товстого кишківника у незмінному вигляді, і забезпечить підвищення біодоступності ЛФ.

3. Вибір матриці для іммобілізації БПЛФ має визначатися з урахування специфіки фізіологічних ефектів кожної матриці.

РОЗДІЛ 4. ТЕХНОЛОГІЧНІ ОСНОВИ ВИРОБНИЦТВА СТАБІЛІЗОВАНОГО ЛАКТОФЕРИНУ ТА АНАЛІЗ НЕБЕЗПЕЧНИХ ЧИННИКІВ ЙОГОВИРОБНИЦТВА

4.1 Розроблення технології виробництва стабілізованого ЛФ

Аналіз літературних джерел та результати виконаних експериментальних досліджень дозволили обґрунтувати технологію отримання стабілізованого ЛФ на концентраті харчових волокон висівків чорнозерної пшениці сорту «Чорноброва».

На рис. 4.1 представлена технологічна схема виробництва стабілізованого ЛФ.

Транспортування, приймання і зберігання ХВЧП. ХВЧП перевозять транспортними засобами усіх видів відповідно до правил перевезень вантажів, що діють на території України.

Зберігання та транспортування ХВЧП може проводитися в паперових мішках з поліетиленовими вкладишами, які повинні бути цілими, міцними, чистими, сухими, не зараженими шкідниками хлібних запасів, без сторонніх запахів. Маса нетто мішків з ХВЧП повинна бути 30 ± 3 кг. Вагу ХВЧП при пакуванні визначають зважуванням на вагах. Мішки-вкладиші запаюють. Зашивання мішків з ХВЧП проводиться машинним способом нитками лляними або синтетичними з залишенням гребеня по всій ширині мішка не менше 4 см. Допускається ручне зашивання міцним шпагатом з залишенням двох вушок, при цьому кожен мішок повинен бути опломбований.

Мішки з ХВЧП мають бути промаркованими. Транспортне маркування – без нанесення маніпуляційних знаків. Маркування тари має бути нанесене на кожен мішок з ХВЧП та повинен бути пришитий маркувальний ярлик розміром 6×9 см з паперу або іншого матеріалу. На ярлику повинні бути нанесені дані, що характеризують продукцію: найменування підприємства-виробника, його місцезнаходження та підпорядкованість; найменування продукції; дата упаковки (рік, місяць, число); позначення нормативного документу.

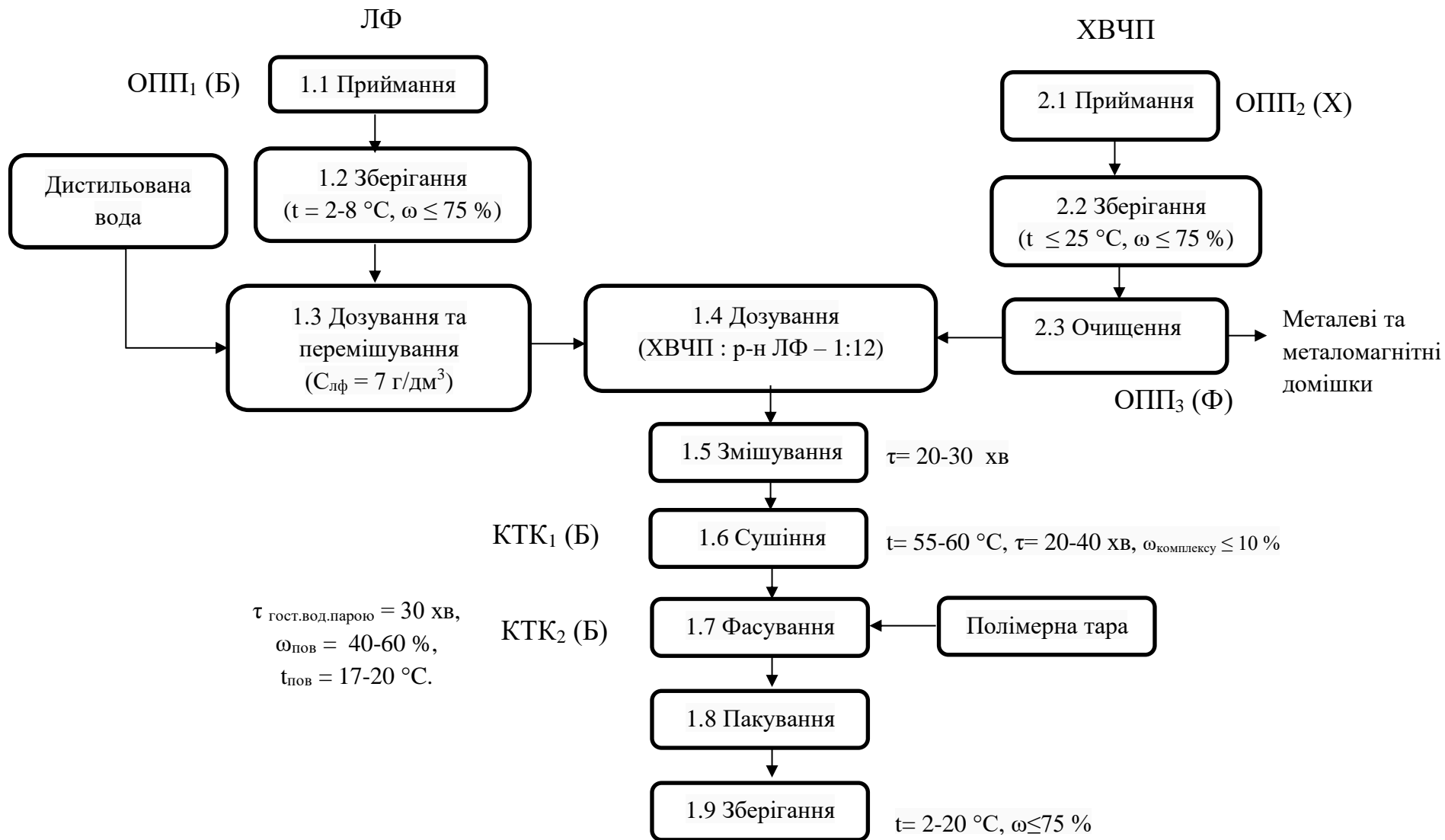


Рис 4.1 – Технологічна схема виробництва комплексу ЛФ-ХВЧП

При відвантаженні кожна партія ХВЧП повинна супроводжуватись посвідченням про якість, де вказуються їхні показники якості та безпечності з встановленими нормами. Вагони залізничного транспорту, автоконтейнери, автомашини самоскиди бути чистими, без сторонніх запахів, після обов'язкової обробки антисептиками від шкідливих комах і не повинні бути заражені шкідниками. ХВЧП є пожежонебезпечними через низьку вологість. Тому температура їх транспортування не повинна перевищувати 30 °С.

ХВЧП приймають партіями. При прийманні упакованих ХВЧП відповідність тари, упаковки і маркування вимогам нормативно-технічної документації встановлюють за вибіркою. Обсяг вибірки залежить від обсягу партії ХВЧП. Результати випробувань щодо органолептичних, фізико-хімічних і мікробіологічних показників поширюють на всю партію.

ХВЧП зберігають у мішках, у яких транспортувались. При перевезенні на склад мішки перевіряються на цілісність. У випадку порушення цілісності мішка, ХВЧП переносять у новий мішок. При зберіганні дотримуються температурно-вологісних режимів ($t = 15-25\text{ }^{\circ}\text{C}$, $W \leq 75\%$). Гарантійний термін зберігання ХВЧП 1 рік. Після закінчення гарантійного терміну перевіряють якість ХВЧП на відповідність вимогам нормативній документації.

Транспортування, приймання і зберігання ЛФ. Харчовий порошок ЛФ ступеня чистоти 95-99 % пакують по 25 кг у волокнистий барабан зовні та поліетиленовий мішок усередині, вагою від 1 до 25 кг – в алюмінієвий мішок ззовні та подвійний поліетиленовий пакет усередині. Також фасують по 1 кг ЛФ в мішок із фольги, 10 мішків на коробку, 25 кг на бочку або індивідуальний пакет. Транспортування здійснюється професійними логістичними компаніями. ЛФ приймають партіями за супровідною документацією, зокрема сертифікатами відповідності. Зберігають ЛФ у сухому, прохолодному, темному складському приміщенні при температурі 2-8 °С, подалі тепла та від сонячного світла в щільно закритому контейнері або циліндрі. Термін придатності ЛФ 2 роки.

Сортування ХВЧП. ХВЧП сортують за якістю та розміром. Для сортування ХВЧП за розміром застосовують сепаратори з ситами, що калібрують на фракції за

аеродинамічними ознаками, і окремо сортують за сукупністю геометричних і аеродинамічних ознак. Для сортування за геометричними ознаками (крупності) служать сита, а за аеродинамічними ознаками – вихідні потоки повітря через сита.

Очищення ХВЧП від домішок. У ХВЧП можуть міститися металомагнітні домішки, які не вдається повністю виділити в сепараторах на етапі сортування. Джерелами феродомішок є стан обладнання, його поломки, корозія і знос. Ці домішки можуть призвести до пошкодження робочих органів машин, а в готовій продукції створюють загрозу здоров'ю людини. Ефективність виділення металомагнітних домішок визначають за вмістом домішок у ХВЧП до і після очищення. Для видалення феромагнітних домішок з висівок призначені магнітні сепаратори. Також у ХВЧП до можуть потрапити сторонні домішки при порушенні умов зберігання, при виході з ладу сит або застосуванні сит не відповідних розмірів осередків.

ЛФ та ХВЧП, що потрапляють до виробництва повинні відповідати органолептичним і фізико-хімічним показникам, а також показникам безпеки і мікробіологічним показникам наведеним у табл. 4.1, 4.2, 4.3 та 4.4 відповідно.

Таблиця 4.1 – Органолептичні показники сировини

Показник	Характеристика	
	ЛФ	ХВЧП
Зовнішній вигляд	Характерний, дрібнодисперсний сипучий порошок з розміром частинок 80 меш	Дрібнодисперсна суміш, без грудочок, однорідної консистенції
Смак та запах	Характерний, без смаку	Нейтральний, властивий продукту, без ознак плісняви
Колір	Блідо-рожевий	Темно-коричневий, сіро-коричневий

Таблиця 4.2 – Фізико-хімічні показники сировини

Показник	Норма	
	ЛФ	ХВЧП
Масова частка вологи, %, не більше ніж	4,0±0,5	10,0

Масова частка білка, %	95,0-99,0	15,0-19,0
Масова частка вуглеводів, %, не менше ніж	–	75,0
Масова частка сирової клітковини, %, не менше ніж	–	9,0
Масова частка сирого жиру, %, не більше ніж	–	4,5-5,0
Масова частка золи, %, не більше ніж	5,0	7,0
Масова частка негідролізованого залишку, %	–	3,5-5,0
Масова частка фенольних речовин, у перерахунку на галову кислоту, не менше мг/100г	–	120,0
Вміст сторонніх домішок	Не допускається	Не допускається
Зараженість і забрудненість шкідниками	–	Не допускається

Таблиця 4.3 – Показники безпечності сировини

Показник	Допустимі рівні, мг/кг, не більше	
	ЛФ	ХВЧП
Токсичні елементи, не більше		
- свинець	2	2,0
- кадмій	2	1,0
- миш'як	2	0,2
- мідь	-	20
- цинк	-	130
- ртуть	2	-
Радіонукліди, Бк/кг, не більше ніж		
- ¹³⁷ Cs	200	300
- ⁹⁰ Sr	100	80
Мікотоксин афлатоксин М ₁	-	0,0005
Пестициди	-	Не допускається

Таблиця 4.4 – Мікробіологічні показники сировини

Показник	Допустимі рівні	
	ЛФ	ХВЧП
Кількість МАФАНМ в 1 г/см ³ КУО, не більше	10 · 10 ³	3,0 · 10 ³
Бактерії групи кишкових паличок (коліформи), не допускаються в 0,001 г (см ³)	Не допускається	Не допускається

Патогенні мікроорганізми, зокрема, <i>Salmonella</i> , в 25 г	Не допускається	Не допускається
Плісеневі гриби в 1 г, КУО/г	1000	Не допускається
Дріжджі, в 1 г, КУО/г	1000	Не допускається

Приготування водного розчину ЛФ. ЛФ дозується ваговим способом у реактор, куди порціями подається підготовлена вода у кількості, що забезпечить концентрацію ЛФ у розчині 7 г/дм³. Суміш перемішується мішалкою в реакторі до повного розчинення ЛФ.

Дозування і перемішування. Розчин ЛФ за допомогою дозатора трубопроводом порційно подається в реактор з ГМ 12, куди спочатку ваговим способом завантажено ХВЧП. Суміш ретельно перемішується мішалкою до повного 20-30 хв і рівномірного зволоження ХВЧП, після чого витримується протягом 10-15 хв для забезпечення повної іммобілізації ЛФ на ХВЧП.

Сушіння та охолодження стабілізованого ЛФ. Комплекс ЛФ-ХВЧП переважують у автоматизовану сушарку з киплячим шаром для сушіння термочутливих або термолабільних матеріалів (гранул та порошку) у фармацевтичній промисловості та сушать у псевдозрідженому шарі за температури 55-60 °С упродовж 20-40 хв. Це забезпечує відсутність гарячих точок продуктів. Відбувається щадне та рівномірне сушіння порошку. Остаточна вологість дієтичної добавки не повинна перевищувати 10 %.

Фасування та пакування стабілізованого ЛФ. Пакування та фасування дієтичної добавки здійснюється під суворим контролем. Сухий комплекс ЛФ-ХВЧП подають на автоматизовану лінію фасування (наповнення) за заданими параметрами у тверду полімерну тару. Фасують комплекс ЛФ-ХВЧП у баночки по 280 г з розрахунку для проходження 1 курс прийому: добова потреба в ЛФ складає 250 мг, яку забезпечує вживання 3,25 г комплексу ЛФ-ХВЧП (3 г ХВЧП + 250 мг ЛФ); курс прийому дієтичної добавки складає 12 тижнів, тобто 84 доби. Датчиками контролюється наповненість пластикових ємностей, відбраковується невідповідна продукція для подальшого перепакування. Для фасування використовується спеціалізоване обладнання, що точно дозує вагу добавки і запобігає можливому її забрудненню в процесі упаковки. Фасування порошків проводиться в практично

стерильних умовах, при цьому контролюється вологість повітря, температура, мікробіологічні показники навколишнього середовища (зони А робочого приміщення). Оброблення зони гострою водяною парою проводять 30 хв, а потім контролюють вологість, яка не повинна бути більшою за 60 %, а температура не має перевищувати 17-20 °С. У разі підвищення цих параметрів повітря робочої зони у ній можуть розвиватись мікроорганізми і буде відбуватись біоконтамінація продукту.

Полімерні ємності запаюються індукційним методом. Це запобігає можливим зовнішнім впливам, забезпечить заявлений термін придатності при зберіганні дієтичної добавки.

Потім проводиться вторинне пакування у картонні коробочки, куди вкладаються мірники для добового споживання, і маркування. На вторинній упаковці розміщуються необхідні дані відповідно до нормативів та інформація про склад і властивості використовуваного препарату. Короби оклеюють, маркують, укладають у штабелі, транспортують на склад готової продукції.

Зберігання. Зберігають дієтичну добавку у чистому, добре вентильованому приміщенні до 12 місяців за температури 2-20 °С, відносній вологості повітря не більше ніж 75 %.

Протягом усього виробничого процесу контролюється чистота та безпека зберігання препарату стабілізованого ЛФ, виключено ризик бактеріологічного зараження інгредієнтів. Усі роботи максимально автоматизовані, що унеможливує ризик помилкових дій.

Отриманий комплекс ЛФ-ХВЧП повинен відповідати наступним вимогам за органолептичними (табл. 4.5), фізико-хімічними (табл. 4.6), мікробіологічними показниками (табл. 4.7) і за показниками безпеки (табл. 4.8).

Таблиця 4.5 – Органолептичні показники стабілізованого ЛФ

Показник	Характеристика
Зовнішній вигляд	Без грудочок, крупнодисперсна або дрібнодисперсна суміш
Смак та аромат	Властивий харчовим волокнам з пшеничних висівок, без сторонніх запахів, не затхлий, не кислий, без ознак плісняви
Колір	Темно-коричневий, сіро-коричневий

Таблиця 4.6 – Фізико-хімічні показники стабілізованого ЛФ

Показник	Норма
Масова частка вологи, %, не більше ніж	10,0
Масова частка білка, %	23,0-27,0
Масова частка ЛФ, %	7,8-8,0
Масова частка вуглеводів (харчових волокон), %, не менше ніж	75,0
Масова частка сирого жиру, %, не більше ніж	5,0
Масова частка фенольних речовин, у перерахунку на галову кислоту, не менше мг/100г	120,0
Масова золи, %, не більше	7,0
Вміст сторонніх домішок	Не допускається

Таблиця 4.7 – Мікробіологічні показники стабілізованого ЛФ

Показник	Допустимі рівні
КМАФАнМ, КУО/г	$10 \cdot 10^3$
БГКП (коліформи) в 0,1 г	Не допускаються
Патогенні мікроорганізми, у тому числі <i>Salmonella</i> в 10 г	Не допускаються
Дріжджі, КУО/г	1000
Плісневі гриби, КУО/г	1000

Таблиця 4.8 – Показники безпеки стабілізованого ЛФ

Показник	Допустимі рівні
<i>Токсичні елементи, мг/кг, не більше</i>	
Свинець	1,0
Миш'як	0,2
Ртуть	0,1
Кадмій	1,0
<i>Радіонукліди, Бк/кг, не більше</i>	
Цезій-137	200
Стронцій-90	100

4.2 Аналіз небезпечних чинників виробництва стабілізованого ЛФ

Згідно чинного законодавства, кожне харчове підприємство повинно випускати якісну та безпечну продукцію. Впровадження методології НАССР у практику вітчизняних підприємств викликане необхідністю забезпечення безпеки продукції, що випускається, з метою захисту споживача і сприяння цим підприємствам у міжнародній торгівлі.

НАССР (Hazard Analysis and Critical Control Point – аналіз небезпечних чинників і критичні точки керування) – це система управління, в якій безпека харчових продуктів розглядається шляхом аналізу та контролю біологічних, хімічних, фізичних небезпечних чинників та алергенів від закупівлі сировини та обробки до виробництва, розповсюдження та споживання готової продукції [51].

При розробці плану НАССР необхідно виконати п'ять попередніх завдань перед застосуванням принципів НАССР до конкретного продукту та процесу.

Перше завдання полягає в тому, щоб зібрати команду НАССР, що складається з осіб, які володіють спеціальними знаннями та досвідом з продукту та процесу. Команда відповідає за розробку плану НАССР та має включати людей із таких галузей, як інженерія, виробництво, санітарія, забезпечення якості та харчова мікробіологія. Команда також повинна включати місцевий персонал, який бере участь в технологічному процесі, оскільки вони краще знайомі з мінливістю та обмеженнями технологічних операцій.

До НАССР-групи необхідно долучити спеціалістів різних галузей знань:

- головний інженер, який добре знається на всіх етапах виробництва та обладнанні, що функціонує на технологічній лінії;
- завідувач лабораторії – спеціаліст з якості та безпечності виготовленої продукції, а також сировини, допоміжних матеріалів та пакувальних засобів, у проведенні аналізів контролю якості та безпечності продукції;
- головний технолог – спеціаліст, компетентний у вирішенні питань з технології та знає всі тонкощі технологічного процесу;
- лаборант проводить відбір проб для проведення аналізів.

На другому етапі необхідно надати повний опис продукту, включаючи відповідну інформацію щодо безпечності: склад, хімічна та фізична структури, вид оброблення, спосіб пакування, умови та термін зберігання, спосіб реалізації, передбачуваний споживач та спосіб споживання. Опис готового продукту надано у таблиці 4.9, а сировини, для виробництва готового продукту, – в табл. 4.10 та 4.11.

Таблиця 4.7 – Опис готового продукту

Інформація, що зазначається	Пояснення
Офіційна назва продукту	Лактоферин з харчовими волокнами чорної пшениці
Нормативний документ, за яким виробляється продукт	ТУ У на виробництво стабілізованого на лактоферину на харчових волокнах висівок чорнозерної пшениці
Перелік сировини, матеріалів, що використовуються під час виробництва	Препарат лактоферину (ступінь чистоти 95-99 %), харчові волокна висівок чорнозерної пшениці сорту «Чорноброва», вода, полімерні ємності з кришкою
Органолептична характеристика	Продукт випускається у вигляді порошку сіро-коричневого кольору, смак та запах пріснуватий, без сторонніх запахів, не затхлий, не кислий, без ознак плісняви
Фізико-хімічні характеристики	Масова частка вологи, %, не більше ніж – 10,0; Масова частка білка – 23,0-27,0 %; Масова частка ЛФ – 7,8-8,0 %; Масова частка вуглеводів (харчових волокон), не менше ніж – 75,0%; Масова частка сирого жиру, не більше ніж – 5,0 %; Масова частка фенольних речовин, у перерахунку на галову кислоту, не менше – 120,0 мг/100 г; Масова золи, не більше – 7,0 %; Вміст сторонніх домішок – не допускається.
Вимоги до безпечності	Вміст токсичних елементів, мк/кг, не більше ніж: - свинець – 1,0; - кадмій – 1,0; - миш'як – 0,2; - ртуть – 0,1. Радіонукліди, Бк/кг, не більше ніж: - цезій-137 – 200; - стронцій-90 – 100.
Мікробіологічні характеристики	МАФАнМ – $10 \cdot 10^3$ КУО/г; БГКП – не допускається в 0,1 г; <i>Salmonella</i> – не допускається в 10 г; Дріжджі та плісеневі гриби – 1000 КУО/г.
Споживче пакування	Дієтичну добавку фасують у полімерні баночки масою 280 г з запаяними полімерними кришками. Потім ємності поміщають у картонну коробку, куди поміщають дозатор добової норми для сипких речовин. Тара повинна бути дозволена Міністерством охорони здоров'я України.
Транспортне пакування	Готовий продукт складають в ящики або картонні коробки. Короби оклеюють, маркують, укладають у штабелі, транспортують на склад готової продукції.
Вимоги до маркування	На маркуванні має бути вказана наступна інформація: - назва дієтичної добавки; - назва виробника, його адреса та телефон, адреса потужності; - компонентний склад; - властивості; - рекомендації щодо застосування; - протипоказання (застереження) до споживання дієтичної добавки певними категоріями населення (дітьми, вагітними жінками, літніми

	<p>людьми, спортсменами та алергіками), якщо такий продукт може негативно впливати на їх здоров'я у разі його споживання;</p> <ul style="list-style-type: none"> - спосіб застосування та добова норма; - особливості застосування; - дата виготовлення; - термін придатності до споживання; - умови зберігання. <p>Маркування продукції у споживчій тарі здійснюється у відповідності з діючим законодавством України за «Гігієнічні вимоги до дієтичних добавок», затверджені наказом МОЗУ від 19.12.2013 р. № 1114.</p>
Умови зберігання та строк придатності	Зберігати в щільно закритій, герметичній упаковці в сухому прохолодному місці за температури від 2 до 20°C та відносній вологості повітря не більше ніж 75 % протягом 12 місяців. Зберігати в недоступному для дітей місці.
Транспортування та реалізація	Перевозять в критих транспортних засобах усіма видами транспорту відповідно до правил перевезення вантажів, що діють на відповідних видах транспорту. Реалізація здійснюється через аптеки, дієтичні відділи магазинів та спеціалізовані магазини.
Дані про передбачуваного споживача та специфічну групу споживачів	Перед початком застосування під час вагітності, планування вагітності, у період грудного вигодовування, особам віком до 18 років або за наявності будь-яких захворювань слід проконсультуватися з лікарем. У випадку виникнення побічних реакцій слід припинити застосування продукту. Не вживати людям, які мають індивідуальну непереносимість до компонентів продукту. Не слід перевищувати рекомендовану дозу.
Потенційно можливе використання не за призначенням	Вживання після закінчення строку придатності
Спосіб вживання	Проковтнути порошок, запивши водою

Таблиця 4.8 – Опис лактоферину

Найменування сировини	Харчовий порошок лактоферину 95 %	
Назва та позначення нормативної документації	Сертифікат контролю якості «Лактоферин»	
Органолептичні показники	Зовнішній вигляд	Характерний, дрібнодисперсний сипучий порошок з розміром частинок 80 меш
	Колір	Блідо-рожевий
	Смак та запах	Характерний, без смаку
Фізико-хімічні показники	Найменування показника	Норма
	Масова частка вологи, %, не більше ніж	4,0±0,5
	Масова частка білка, %	95,0-99,0

	Масова частка золи, %, не більше ніж	5,0
	Вміст сторонніх домішок	Не допускається
Показники безпечності	Найменування показника	Допустимі рівні, мг/кг, не більше
	Токсичні елементи	
	Найменування показника	Норма
	Миш'як, мг/кг, не більше	2
	Свинець, мг/кг, не більше	3
	Кадмій, мг/кг, не більше	2
	Ртуть, мг/кг, не більше	2
Мікробіологічні показники	Найменування показника	Норма
	Кількість мезофільних аеробних та факультативно анаеробних мікроорганізмів, КУО/г, не більше	10×10^3
	Бактерії групи кишкових паличок (коліформи), не допускаються в масі продукту, г (см ³)	Не допускається
	Патогенні мікроорганізми, зокрема, <i>Salmonella</i> , в 25 г	Не допускається
	Плісеневі гриби і дріжджі, КУО/г, не більше	1000
Склад	Білок лактоферин	
Походження та спосіб виробництва	Лактоферин отримують з молока або молочної сироватки	
Спосіб пакування, постачання, умови і термін зберігання, термін придатності	Пакують по 25 кг у волокнистий барабан зовні та поліетиленовий мішок усередині, вагою від 1 до 25 кг – в алюмінієвий мішок ззовні та подвійний поліетиленовий пакет усередині. Також фасують по 1 кг в мішок із фольги, 10 мішків на коробку, 25 кг на бочку або індивідуальний пакет. Зберігають у сухому, прохолодному, темному складському приміщенні при температурі 2-8°C, подалі тепла та від слонячого світла в щільно закритому контейнері або циліндрі. Термін придатності 2 роки.	
Підготовка до використання	Звільнення від упаковки, дозування за масою	
Супроводжувальні документи	Сертифікат якості та безпечності	
Показники, які контролюються під час вхідного контролю	Температуру, герметичність упаковки, органолептичні показники, масову частку вологи, білка, золи, наявність сторонніх домішок.	

Таблиця 4.9 – Опис інгредієнту – харчові висівки чорнозерної пшениці

Найменування сировини	Харчові волокна висівок чорнозерної пшениці сорту «Чорноброва»	
Назва та позначення нормативної документації	ТУ У «Харчові волокна висівок чорнозерної пшениці»	
Органолептичні показники	Зовнішній вигляд	Дрібнодисперсна суміш, без грудочок, однорідної консистенції
	Колір	Темно-коричневий, сіро-коричневий
	Запах та смак	Нейтральний, властивий продукту, без ознак плісняви
Фізико-хімічні показники	Найменування показника	Норма
	Масова частка вологи, %, не більше ніж	10,0
	Масова частка білка, %	15,0-19,0
	Масова частка вуглеводів, %, не менше ніж	75,0
	Масова частка сирої клітковини, %, не менше ніж	9,0
	Масова частка сирого жиру, %, не більше ніж	4,5-5,0
	Масова частка золи, %, не більше ніж	7,0
	Масова частка негідролізованого залишку, %	3,5-5,0
	Масова частка фенольних речовин, у перерахунку на галову кислоту, не менше мг/100г	120,0
	Вміст сторонніх домішок	Не допускається
	Зараженість і забрудненість шкідниками	Не допускається
	Показники безпечності	Найменування показника
Вміст токсичних елементів, мг/кг, не більше		свинець – не більше 3,0; кадмій – не більше 0,1; миш'як - не більше 0,2; мідь – не більше 20; цинк – не більше 130
Мікотоксин афлатоксин М ₁		0,0005
Радіонукліди, Бк/кг		
цезій-137		300
стронцій-90		80
Мікробіологічні показники	МАФАНМ в 1 г/см ³ КУО – не більше $3,0 \cdot 10^3$; Кишкова паличка в 0,001 г продукту – не допускається; Сальмонели в 25 г – не допускаються; пліснява та дріжджі, КУО в 1,0 г продукту – не допускаються; St. aureus в 1,0 г продукту – не допускається.	

Склад, окремо добавки	Харчові волокна висівок чорнозерної пшениці
Походження та спосіб виробництва	Харчові волокна отримують з висівок чорнозерної пшениці обробленням водним розчином сульфатної кислоти, нейтралізацією лужним розчином та промиванням водою
Спосіб пакування, постачання, умови і термін зберігання, термін придатності	Пакують в паперові мішки вагою 30 ± 3 кг з поліетиленовими вкладишами, які повинні бути цілими, міцними, чистими, сухими, не зараженими шкідниками хлібних запасів, без сторонніх запахів. Мішки-вкладиші запаюють. Зашивання мішків проводиться машинним способом нитками лляними або синтетичними. Зберігають в сухих, чистих, холодних, добре вентиляованих приміщеннях за температури від 15 до 25 °C та відносній вологості повітря не більше ніж 75 % протягом 12 місяців.
Підготовка до використання	Розкриття мішку, очищення від домішок, дозування ваговим способом
Супроводжувальні документи	Посвідчення про якість та безпечність, сертифікат відповідності, протоколи випробувань
Показники, які контролюються під час вхідного контролю	Масова частка вологи, сирих жиру і клітковини, білка, золи, вміст сторонніх домішок, зараженість і забрудненість шкідниками. Мікробіологічні показники.

Після вирішення попередніх завдань, обговорених вище, команда НАССР проводить аналіз небезпечних чинників та визначає відповідні заходи контролю. На цьому етапі необхідно визначити сферу дії плану НАССР (табл. 4.10), для цього треба відзначити, яка саме ланка харчового ланцюга охоплюватиметься планом НАССР.

Таблиця 4.10 – Сфера дії плану НАССР

Показник	Характеристика
Харчовий продукт	Дієтична добавка – стабілізований ЛФ на харчових волокнах чорнозерної пшениці
Категорія переробки (готовий до споживання та ін.)	Для самостійного прийому
Процес(и)	Транспортування, приймання, зберігання сировини, розчинення ЛФ, дозування, змішування, сушіння, фасування, пакування, зберігання
Виробничі підрозділи	Склад зберіганні сировини, технологічний цех, дільниця пакування та фасування дієтичної добавки, склад готової продукції

Четвертий етап – складання блок-схеми виробництва. Схема повинна охоплювати всі етапи виробництва, які включені в план НАССР. Опис процесу повинен бути чітким, простим, але повним. Технологічна схема отримання ЛФ на

ХВЧП наведена на рис. 4.1. Потім проводиться перевірка блок-схеми на місці. Під час аналізу небезпек важливо враховувати інгредієнти та сировину, кожен етап процесу, зберігання та розповсюдження продукту, а також остаточне приготування та використання споживачем. Небезпека визначається як біологічний, хімічний або фізичний агент, алергени, які з достатньою ймовірністю можуть спричинити захворювання чи травму за відсутності контролю. Результатом дослідження небезпечних чинників є «Протокол ідентифікації та оцінювання небезпечних чинників кількісним методом», який наведений у додатку А.

При визначенні небезпечних чинників в процесі виробництва стабілізованого БПЛФ слід відмітити декілька операцій, при яких ризик виникнення небезпечних чинників досить висок, за недотримання технології виробництва, починаючи від приймання сировини і до сушіння.

1) Значимість впливу від фізичних чинників, таких як біжутерія, ювелірні прикраси, накладні нігті, годинники, пил та пісок з землею, волосся, уламки від обладнання, невелика, але не дорівнює нулю. Персонал підприємства повинен мати форму, яка попередить потрапляння стороннього фізичного чиннику а також зобов'язаний дотримуватися робочої інструкції.

2) Значимість впливу від хімічних чинників, таких як токсичні елементи та залишки дезінфікуючих засобів для миття, низька. Зазвичай наявність і кількість токсичних елементів в сировині від перевірених постачальників не перевищує гранично допустимих норм, які затверджені у супровідних документах. У іншому випадку підприємство не буде переробляти потенційно-небезпечну сировину. Що ж стосується дезінфікуючих засобів – на підприємстві дозволено використання нетоксичних мийних засобів, які не зіпсують сировину або готовий продукт. Також персонал слідкує за періодичністю режимів дезінфекції і за концентрацією цих засобів.

3) Значимість біологічних небезпечних чинників присутня і під час деяких процесів вона має досить високі показники впливу. Так, наприклад, під час процесу сушіння, через недотримання контролю вологості і температури, може вирости кількість сторонньої мікрофлори до несприятливого рівня а також може

з'явитись пліснява, яка зіпсує готовий продукт. Це здатне викликати харчове отруєння, алергію, погіршити перебіг хронічних захворювань. Тому цей процес слід постійно контролювати.

Після проведення аналізу небезпечних чинників, необхідно визначити критичні точки керування (КТК) та операційні програма-передумови (ОПП).

За допомогою дерева рішень (табл. 4.11) провели розподіл суттєвих небезпечних чинників та віднесли до плану НАССР та ОПП: у табл. 4.12 наведений план НАССР виробництва стабілізованого ЛФ, у табл. 4.13 наведені ОПП.

Таблиця 4.11 – Протокол розподілу заходів керування за категоріями

Номер та назва стадії (операції) процесу	Суттєві небезпечні чинники	Заходи керування та їхні комбінації	Питання 1: Чи існують на цій стадії процесу заходи керування, здатні запобігти небезпечним чинникам, або усунути/зменшити їх до прийняттого рівня? НІ-змінити процес, ТАК – перейти до питання 2	Питання 2: Чи є на Подальших стадіях процесу заходи керування, здатні запобігти небезпечному чиннику, або усунути чи зменшити їх до прийняттого рівня? ТАК – віднести до ОПП, НІ – перейти до питання 3	Питання 3: Чи можливо установити показник і його критичні межі для здійснення моніторингу? НІ – віднести до ОПП, ТАК – перейти до питання 4	Питання 4: Чи можливо установлення адекватних програм моніторингу, щоб своєчасно виконувати коригування та коригувальні дії? НІ – віднести до ОПП, ТАК – віднести до плану НАССР	Розподілення за категоріями	
							ОПП	план НАССР (КТК)
1.1. Приймання ЛФ	Б – сторонні та патогенні мікроорганізми	Гарантії постачальника, протоколи дослідження, періодичний контроль	Так	Так	–	–	ОПП	–
2.1 Приймання ХВЧП	Х – пестициди, мікотоксини, токсичні елементи, радіонукліди	Гарантії постачальника, протоколи дослідження, періодичний контроль	Так	Ні	Так	Ні	ОПП	–
2.3 Очищення ХВЧП	Ф – металеві домішки, металомагнітні домішки, сторонні предмети	Використовувати сита відповідних розмірів, їх вчасно очищувати. Металомагнітні уловлювачі очищувати, перевіряти магнітну індукцію і підйомну силу.	Так	Так	–	–	ОПП	–

КРМ.ХХ та Е.1.732-03.1.1

Номер та назва стадії (операції) процесу	Суттєві небезпечні чинники	Заходи керування та їхні комбінації	Питання 1: Чи існують на цій стадії процесу заходи керування, здатні запобігти небезпечним чинникам, або усунути чи зменшити їх до прийняттого рівня? НІ – змінити процес, ТАК – перейти до питання 2	Питання 2: Чи є на Подальших стадіях процесу заходи керування, здатні запобігти небезпечному чиннику, або усунути чи зменшити їх до прийняттого рівня? ТАК – віднести до ОПП, НІ – перейти до питання 3	Питання 3: Чи можливо установити показник і його критичні межі для здійснення моніторингу? НІ – віднести до ОПП, ТАК – перейти до питання 4	Питання 4: Чи можливо установлення адекватних програм моніторингу, щоб своєчасно виконувати коригування та коригувальні дії? НІ – віднести до ОПП, ТАК – віднести до плану НАССР	Розподілення за категоріями	
							ОПП	план НАССР (КТК)
Номер та назва стадії (операції) процесу	Суттєві небезпечні чинники	Заходи керування та їхні комбінації	Питання 1: Чи існують на цій стадії процесу заходи керування, здатні запобігти небезпечним чинникам, або усунути чи зменшити їх до прийняттого рівня? НІ – змінити процес, ТАК – перейти до питання 2	Питання 2: Чи є на Подальших стадіях процесу заходи керування, здатні запобігти небезпечному чиннику, або усунути чи зменшити їх до прийняттого рівня? ТАК – віднести до ОПП, НІ – перейти до питання 3	Питання 3: Чи можливо установити показник і його критичні межі для здійснення моніторингу? НІ – віднести до ОПП, ТАК – перейти до питання 4	Питання 4: Чи можливо установлення адекватних програм моніторингу, щоб своєчасно виконувати коригування та коригувальні дії? НІ – віднести до ОПП, ТАК – віднести до плану НАССР	Розподілення за категоріями	
							ОПП	план НАССР (КТК)
1.6 Сушіння комплексу ЛФ-ХВЧП	Б – залишкова мікрофлора	$t = 55-60\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\tau = 20-40\text{ хв}$, $\omega_{\text{комплексу}} \leq 10\%$.	Так	Ні	Так	Так	–	КТК
1.7 Фасування	Б – мікрофлора робочого	$\tau_{\text{гост.вод.парою}} = 30\text{ хв}$, $\omega_{\text{пов}} = 40-60\%$,	Так	Ні	Так	Так	–	КТК

КРМ.ХХ та Е.1.732-03.1.1

Арк.

Номер та назва стадії (операції) процесу	Суттєві небезпечні чинники	Заходи керування та їхні комбінації	Питання 1: Чи існують на цій стадії процесу заходи керування, здатні запобігти небезпечним чинникам, або усунути/зменшити їх до прийняттого рівня? НІ-змінити процес, ТАК – перейти до питання 2	Питання 2: Чи є на подальших стадіях процесу заходи керування, здатні запобігти небезпечному чиннику, або усунути чи зменшити їх до прийняттого рівня? ТАК – віднести до ОПП, НІ – перейти до питання 3	Питання 3: Чи можливо установити показник і його критичні межі для здійснення моніторингу? НІ – віднести до ОПП, ТАК – перейти до питання 4	Питання 4: Чи можливо установлення адекватних програм моніторингу, щоб своєчасно виконувати коригування та коригувальні дії? НІ – віднести до ОПП, ТАК – віднести до плану НАССР	Розподілення за категоріями	
							ОПП	план НАССР (КТК)
комплексу ЛФ-ХВЧП	приміщення	$t_{пов} = 17-20 \text{ }^\circ\text{C}$.						

Таблиця 4.12 – План НАССР виробництва стабілізованого ЛФ

КТК № – /стадія процесу	Небезпечний (-і) чинник(и), яким(и) керують у КТК	Захід (-оди) керування	Критична межа	Процедура моніторингу				Протоколи	Коригування та коригувальні дії (відповідальність) протоколи
				Вимірювання або спостереження	Прилади, використ. для моніторингу	Частота	Хто виконує моніторинг/оці нює результат		
КТК 1 1.7 Сушіння комплексу ЛФ- ХВЧП	Б – залишкова і патогенна мікрофлора : МАФАНМ; БГКП (колі форми), <i>Salmonella</i> , плісневі гриби.	Дотримання режимів сушіння та остаточного вмісту вологи у продукті	t= 55-60 °С, τ= 20-40 хв	Автоматична реєстрація температури і тривалості сушіння на дисплеї	Термодатчики, датчики часу процесу сушіння, автоматична реєстрація показників	Постійний контроль температур и та тривалості	Оператор технологічної лінії, технолог	Журнал контролю процесу сушіння	Посилений контроль роботи сушарки і параметрів сушіння. Повідомляють головного технолога
			$\Phi_{\text{комплексу}} \leq 10 \%$	Лабораторне визначення вмісту води у продукті	Аналітичні ваги, бюкси, сушильна шафа, ексикатори	Кожна партия дієтичної добавки	Хімік- лаборант	Журнал контролю вмісту вологи у дієтичних добавках	Дієтичну добавку з підвищеним вмістом кологи спрямовують на досушування. Повідомляють зав. лабораторії.
КТК 2 1.7 Фасування комплексу ЛФ- ХВЧП	Б – мікробіологічна контамінація повітря зони А робочого приміщення, в якій контамінація може становити високий ризик для продукції	Забезпечення біобезпеки – асептичні умови фасування і закупорювання емностей	Межі мікробіологічної контамінації: <1 – проба повітря, КУО/м ³ ; седиментація на пластину (d=55 мм), КУО/4 год	Аналіз проби повітря на концентрацію життєздатної мікрофлори, седиментація на пластину.	Еспрес-тести, контактні пластини (d=55 мм), КУО/пластина	1 раз в зміну	Хімік- лаборант	Журнал контролю біобезпеки робочих приміщень	Повторна стерилізація зони А робочого приміщення. Посилений контроль температурно- вологісних умов. Повідомляють головного технолога і зав. лабораторії.
			$\tau_{\text{гост.вод.парою}} = 30 \text{ хв.}$ $\omega_{\text{пов}} = 40-60 \%$ $t_{\text{пов}} = 17-20 \text{ }^\circ\text{C.}$	Тривалість обробки гострою водяною парою, вимірювання вологості і температури стерильного повітря	Автоматичний реєстратор тривалості обробки гострою водяною парою, гігрометр, термометр	Кожний раз при стерилізації повітря, постійно при фасуванні та закупорюванні	Оператор робочих приміщень	Журнал контролю кліматичних умов робочих приміщень	

Таблиця 4.13 – ОПП виробництва стабілізованого ЛФ

КРМ.ХХтаЕ.1.732-03.1.1

Арк.

ОПП № /стадія процесу	Небезпечний (-і) чинник(и), яким(и) керують у ОПП	Захід (-оди) керування	Процедура моніторингу				Протоколи	Коригування та коригувальні дії (відповідальність) протоколи
			Вимірювання або спостереження	Прилади, використ. для моніторингу	Частота	Хто виконує моніторингу /оцінює результат		
ОПП 1 1.1. Приймання ЛФ	Б – сторонні та патогенні мікроорганізми	Гарантії постачальника, протоколи дослідження, мікробіологічний контроль	Мікробіологічне дослідження	Експрес-тести, бакпосіви	Кожна партія	Мікробіолог	Журнал вхідного контролю сировини	У разі невідповідності партію забраковують і повертають постачальнику
ОПП 2 2.1 Приймання ХВЧП	Х – пестициди, мікотоксини, токсичні елементи, радіонукліди	Гарантії постачальника, протоколи дослідження, періодичний контроль	Токсикологічний аналіз	Експрес-тести, ВЕРХ, ГХ, атомно-абсорбційний спектрометр, радіометри або бета-спектрометри	Періодичний контроль – 1 раз/міс.	Хімік-лаборант	Журнал вхідного контролю сировини	У разі невідповідності партію забраковують і повертають постачальнику
ОПП 3 2.3 Очищення ХВЧП	Ф – Металеві та металоманітні домішки	Використання сит відповідних розмірів, їх очищення. Застосування магнітних уловлювачів, перевірка їх магнітної індукції і вантажопідйомності магніту.	У магнітних уловлювачах проводиться перевірка сили магніту – вантажопідйомність. При зниженні вантажопідйомності нижче норми магнітні дуги намагнічують.	Магніти перевіряють теслометром	Регулярна перевірка раз в 7 днів	Оператор технологічної лінії, змінний лаборант.	Журнал обліку металоманітних домішок	У разі невідповідності нормам за вмістом металоманітних домішок спрямовують на повторне очищення. Очищення магнітів проводиться слюсарем і змінним лаборантом не рідше 1 разу в зміну

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 4

1. Розроблена технологія виробництва дієтичної добавки – стабілізованого ЛФ на ХВЧП, технологічними операціями якої є приймання і зберігання сировини, приготування водного розчину ЛФ, очищення від домішок ХВЧП, дозування і змішування обох компонентів, сушіння комплексу ЛФ-ХВЧП, його фасування, закупорювання тари, пакування і зберігання.

2. Обґрунтовано показники якості та безпечності дієтичної добавки ЛФ-ХВЧП: органолептичні характеристики, з фізико-хімічних показників нормовано масову частку вологи – не більше 10,0 %, масову частку білка – 23,0-27,0 %, масову частку ЛФ – 7,8-8,0 %, масову частку вуглеводів (ХВ) – не менше 75,0 %, масову частку сирого жиру – не більше 5,0 %, масову частку фенольних речовин – не менше 120,0 мг/100 г, масову частку золи – не більше 7,0 %, вміст сторонніх домішок – не допускається. З небезпечних речовин регламентовано вміст токсичних металів і радіонуклідів, з мікробіологічних показників – норми КМАФАнМ, БГКП (коліформи), патогенних мікроорганізмів, у тому числі *Salmonella*, дріжджів і пліснявих грибів.

3. Розроблено план НАССР технології виробництва дієтичної добавки ЛФ-ХВЧП. Для цього зроблено опис продукту і сировини, розроблено блок-схему, проведено аналіз небезпечних чинників, визначенно з них суттєві, щодо них проведено розподіл заходів керування за категоріями. До плану НАССР віднесено дві КТК на операціях сушіння дієтичної добавки й її фасування у ємності. На цих обох етапах ризиками є небезпечна мікрофлора. У результаті недотримання умов сушіння комплексу ЛФ-ХВЧП небезпеку може скласти залишкова мікрофлора, зокрема патогенна. При фасуванні добавки і закупорюванні ємності з нею необхідно забезпечити асептичні умови робочого приміщення. До ОПП віднесено приймання сировини за супровідною документацією, а також необхідним є періодичний лабораторний контроль. Небезпечним чинником при прийманні субстанції ЛФ можуть бути патогенна мікрофлора. При прийманні ХВЧП необхідно звертати увагу на вміст токсичних металів, мікотоксинів, пестицидів, радіонуклідів. Фізичною небезпекою, яка може траплятись при очищенні ХВЧП, є металеві та металомагнітні домішки. Тому операцію очищення ХВЧП віднесено до ОПП.

РОЗДІЛ 5 ОХОРОНА ПРАЦІ ТА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА НА ВИРОБНИЦТВІ

Безпека виробництва є невід'ємними вимогами до будь-якого технологічного процесу. Мірою безпеки на підприємстві служить вміст у повітрі приміщень і на поверхнях будь-яких потенційно небезпечних матеріалів. Об'єктами спостереження при вирішенні проблем виробничої безпеки є як робоче середовище, так і персонал. Тільки при благополучному стані зазначених об'єктів спостереження можна гарантувати, що прийняті заходи ефективні. Зазначене також відноситься до контролю всіх матеріальних потоків, що надходять з підприємства в навколишнє середовище.

5.1. Ідентифікація небезпечних та шкідливих виробничих чинників (НШВЧ), які мають найбільший вплив на працюючих

За своїм походженням та природою дії НШВЧ можна поділити на 5 груп: фізичні, хімічні, біологічні, психофізіологічні та соціальні.

До фізичних НШВЧ відносяться машини та механізми або їх елементи, а також вироби, матеріали, заготовки тощо, які рухаються або обертаються; конструкції, які руйнуються; системи, устаткування або елементи обладнання, які знаходяться під підвищеним тиском; підвищена запиленість та загазованість повітря; підвищена або понижена температура повітря, поверхонь приміщення, обладнання, матеріалів; підвищені рівні шуму, вібрації, ультра- й інфразвуку; підвищений або понижений барометричний тиск та його різкі коливання; підвищена та понижена вологість; підвищена швидкість руху й іонізація повітря; підвищений рівень іонізуючих випромінювань; підвищене значення напруги в електричній мережі; підвищені рівні статичної електрики, електромагнітних випромінювань; підвищена напруженість електричного, магнітного полів; відсутність або нестача світла; недостатня освітленість робочої зони; підвищена яскравість світла; понижена контрастність; прямий та віддзеркалений блиск; підвищена пульсація світлового потоку; підвищені рівні ультрафіолетової та інфрачервоної радіації; гострі кромки, задирки, шершавість на поверхні заготовок, інструментів та обладнання; розташування робочого місця на значній висоті

відносно землі (підлоги); слизька підлога; невагомість.

До хімічних НШВЧ відносяться хімічні речовини, які по характеру дії на організм людини поділяються на токсичні, задушливі, наркотичні, подразнюючі, сенсibiliзуючі, канцерогенні, мутагенні та такі, що впливають на репродуктивну функцію. За шляхами проникнення в організм людини вони поділяються на такі, що потрапляють через: органи дихання, шлунково-кишковий тракт, шкіряні покриви та слизисті оболонки.

До біологічних НШВЧ відносяться патогенні мікроорганізми (бактерії, віруси, рикетсії, спірохети, грибки, найпростіші) та продукти їхньої життєдіяльності, а також макроорганізми (тварини та рослини).

До психофізіологічних НШВЧ відносяться фізичні (статичні та динамічні) перевантаження і нервово-психічні перевантаження (розумове перенапруження, перенапруження аналізаторів, монотонність праці, емоційні перевантаження).

Соціальні НШВЧ – це неякісна організація роботи, понаднормова робота, необхідність роботи в колективі з поганими відносинами між його членами, соціальна ізоляція з відривом від сім'ї, зміна біоритмів, незадоволеність роботою, фізична та/або словесна образа та її ризик, насильство та його ризик [52,53,54].

У цеху з виробництва комплексу ЛФ-ХВЧП встановлено наступне обладнання:

1. реактори;
2. сушарки;
3. центрифуги;
4. електродвигуни;
5. фільтри для очищення повітря;
6. технологічна лінія на фасування.

У процесі роботи виникає ряд потенційно небезпечних і шкідливих виробничих чинників: фізичні, хімічні, біологічні й психофізіологічні (згідно Державних санітарних норм і правил), які показані у табл. 5.1

Таблиця 5.1 – Небезпечні і шкідливі виробничі чинники

№ з/п	Найменування небезпечних і шкідливих виробничих чинників	Нормоване значення	Нормативний акт	Джерело виникнення
1	Рухливі машини і механізми	-	НПАОП 15.3-1.19-98	Рух транспортних засобів, візків
2	Рухливі частини обладнання, які пересувають вироби	-	-//-	Технологічна лінія на фасування
3	Підвищена запиленість повітря робочої зони	ГДК (солі)=6 мг/м ³ ГДК (оцт. к-та)=5 мг/м ³	Гігієнічні нормативи ГН 2.2.5.686-98	Відділення пакування
4	Підвищена температура повітря робочої зони	Холодний період: 19-21 Теплий період: 21-23	ДСН 3.36.042-99	Відділення сушіння
5	Підвищений рівень шуму на робочому місці	80 дБА	ДСН 3.3.6.037-99 санітарні норми виробничого шуму, ультразвуку та інфразвуку	Електродвигуни, центрифуги, технологічна лінія на фасування
6	Підвищений рівень вібрації	50/76 дБ	ДСН 3.3.6.039-99 санітарні норми виробничої загальної та локальної вібрації	Електродвигуни, центрифуги, технологічна лінія на фасування
7	Підвищена вологість	40 – 60 %	ДСН 3.36.042-99	-
8	Підвищене значення напруги в електричному ланцюзі, замикання	-	НПАОП 40.1-1.01-97 40.1-1.32-01	Електродвигуни, сушарки, реактори, технологічна лінія на фасування при роботі електричного устаткування
9	Підвищений рівень статичної електрики	-	НПАОП 40.1-1.01-97 Правила безпечної експлуатації електроустановок 40.1-1.32-01	Електродвигуни, при роботі електричного устаткування
10	Недостатня освітленість робочої зони	КПО \geq 1,5 %	ДБН В.2.5-28-2006 природне і штучне освітлення	Електродвигуни, сушарки, реактори, технологічна лінія на фасування при роботі електричного устаткування, спектрофотометр
11	Гострі крайки, задирки і жорсткість	-	НПАОП 15.3-1.19-98	На поверхнях заготівель, устаткування
12	Розташування робочого місця на значній висоті	-	НПАОП 15.3-1.19-98	Електродвигуни, сушарки, реактори, технологічна лінія на фасування
13	Подразнюючі	ГДК (солі)=6 мг/м ³ ГДК (оцт. к-та)=5 мг/м ³	Гігієнічні нормативи ГН 2.2.5.686-98	Лабораторія, відділення приготування дезрозчинів

14	Патогенні мікроорганізми та продукти їх життєдіяльності	Не допускаються	I 4.4.4.077-01	Мікробіологічна лабораторія
15	Фізичні перевантаження	-	-	Електродвигуни, сушарки, реактори, технологічна лінія на фасування, центрифуги
16	Монотонність праці	-	Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 08.04.2014 № 248	Електродвигуни, сушарки, реактори, технологічна лінія на фасування, центрифуги

5.2 Екологічна безпеність виробництва

Для забезпечення нормованих показників повітряного середовища в робочій зоні на підприємстві передбачені оптимальні норми температури, відносної вологості, швидкості руху повітря.

Виробничі приміщення повинні бути обладнані вентиляцією. Технологічний процес повинен бути забезпечений приточно-витяжною вентиляцією, місцевими відсосами.

Мікроклімат робочої зони для створення комфортних та безпечних умов забезпечується за рахунок вентиляції, кондиціонування повітря, дистанційного управління технологічним обладнанням, спец. одягу, засобів індивідуального захисту, медичного огляду.

Виявлення джерел виробничого шуму і вібрації та їх нормування

Для зниження рівня шуму найбільш гучні виробництва виділяють в окремі приміщення звукоізолюючими стінами (компресорна, сепаратори, т.д.). Передбачено установку всього шумного обладнання на спеціальний фундамент; прямозубі зубчасті передачі замінені більше плавними передачами; своєчасний огляд за устаткуванням і його ремонт. Гранично припустимий рівень шуму на постійних робочих місцях – не більше 80 дБА згідно ДСН 3.3.6.037-99 та ДСН 3.3.6.039-99. Для робітників передбачені навушники.

Таблиця 5.2 – Норми шуму та вібрації

№ з/п	Найменування одиниці технологічного обладнання	Нормативне значення шуму, дБА	Нормативне значення вібрації (локальна/загальна), дБ
1	Реактори	80	50/76
2	Центрифуга	80	50/76
3	Сушарка	80	50/76
4	Технологічна лінія на фасування фармацевтичних препаратів	80	50/76

Виділення і нормування показників освітлення робочої зони Виробничий цех має природне та штучне освітлення згідно ДБН В.2.5.-28-2006. Природна освітленість у проєктованому цеху рівномірна за рахунок віконних прорізів. Використовується бічне та суміщене освітлення. Бічне – денне світло проникає в приміщення через світлові прорізи в зовнішніх стінах будинку; сполучене – одночасно використовується як природне так і штучне світло.

Для штучної освітленості використовують електричні джерела світла. Передбачено робоче, аварійне й ремонтне освітлення. При неполадках і відключенні світла на виробництві застосовується аварійна освітленість для продовження роботи.

Передбачений необхідний рівень освітленості, наведений у табл. 5.3.

Таблиця 5.3 – Норми освітленості виробничого приміщення

№ з/п	Виробниче приміщення	Вид освітлення	Розряд та підрозряд зорової роботи	Освітленість, лк min
1	Відділення змішування	Суміщене	УШб	100
2	Відділення сушіння	Суміщене	УШб	100
3	Лабораторія	Суміщене	Шб	300
4	Відділення приготування дезрозчинів	Суміщене	Шг	200
5	Трансформаторна	Суміщене	Шг	200
6	Щитова	Суміщене	Ув	200
7	Склад готової продукції	Суміщене	Ув	200
8	Склад миючих засобів та дезрозчинів	Суміщене	Шг	200
9	Відділення оформлення та упакування готової продукції	Суміщене	Ув	200

Вимоги безпеки щодо розташування та компонування виробничого обладнання

Розташування та компонування основного і допоміжного технологічного обладнання повинно відповідати наступним вимогам:

- мінімальна ширина магістральних проходів – 1,5 м.
- найменша відстань поміж стінами виробничої будівлі і обладнання – 1,0 м. При наявності постійних робочих місць між ними – 1,4 м.
- ширина проходів між обладнанням у вибухонебезпечних приміщеннях – не менш ніж 1,5 м.
- мінімальна ширина проходу між паралельно встановленим виробничим обладнанням – 2 м, а відстань між окремо розташованим обладнанням – 0,8 м.

Для запобігання травматизму, пов'язаного з роботою устаткування для транспортування та інспекції, зміст і ремонт даного устаткування відповідає вимогам.

При обслуговуванні лінії оформлення готової продукції дотримуються наступні заходи безпеки, що запобігають шкідливому впливу механізмів, що рухаються: передбачені огороження, блокування, контроль над рівномірністю надходження продукції на лінію.

Для запобігання травматизму при розміщенні робочого місця на висоті передбачені сходи з поручнями шириною 1 м і проходи між устаткуванням і поручнями 1 м.

Електробезпека

Безпека від електричного струму забезпечується за допомогою наступних дій: струмоведучі частини устаткування ізолюються, деякі мають подвоєну ізоляцію (мийні машини); передбачене заземлення електродвигунів, автоматичне захисне відключення, попереджувальна сигналізація; усі виробничі приміщення класифіковані за категоріями табл. 5. Робітники забезпечені засобами захисту: діелектричні килимки біля розподільних щитів.

Електропроводка прокладається в гумових трубах, захищається від механічного ушкодження, нагрівання, вологи.

Для запобігання травматизму від статичної електрики заземлене все устаткування. Насоси, реактори, пневмотранспорт відділені та заземлені окремо. Виробничі та допоміжні приміщення, категорія приміщень за чинниками виробничого середовища, категорія приміщень з небезпеки ураження електричним струмом наведені у табл. 5.5.

Таблиця 5.5 – Категорії приміщень за чинниками виробничого середовища і безпеки ураження електричним струмом

№ з/п	Виробничі та допоміжні приміщення	Категорія приміщень за чинниками виробничого середовища	Категорія приміщень з безпеки ураження електричним струмом
1	Відділення змішування	Вологе	I
2	Відділення сушіння	Сухе	I
3	Лабораторія	Сухе	I
4	Відділення приготування дезрозчинів	Вологе	I
5	Трансформаторна	Сухе	II
6	Щитова	Сухе	II
7	Склад готової продукції	Сухе	I

Примітка: I – приміщення без підвищеної небезпеки; II - приміщення з підвищеною небезпекою.

Пожежна безпека

Пожежна безпека відповідає вимогам стандартів, будівельних норм і правил, норм технологічного проектування [55].

До всіх будинків і споруджень забезпечений вільний доступ. У нічний час територія висвітлюється. Забороняється паління в невстановлених місцях.

Технологічне устаткування при нормальних режимах роботи пожегобезпечне, а на випадок небезпечних несправностей і аварій передбачаються захисні заходи, що обмежують масштаб і наслідки пожежі.

Класифікація виробничих приміщень за категоріями вибухопожежної і пожежної безпеки представлена в табл. 5.6.

Таблиця 5.6 – Категорії приміщень з пожежовибухонебезпеки

№ з.п.	Виробничі та допоміжні приміщення	Категорія приміщень з пожежовибухонебезпеки	Клас пожеж	Клас зони з пожежовибухонебезпеки
1	Відділення змішування	Д	А, В, Е	П-1
2	Відділення сушіння	В	А, В, Е	П-1
3	Лабораторія	В	А, В, С, Е	П-1
4	Відділення приготування дезрозчинів	В	А, В, Е	П-1
5	Трансформаторна	Д	Е	П-1

6	Щитова	Д	Е	П-1
7	Склад готової продукції	В	А	П-1

Примітка: Категорія В. Горючі та важкогорючі рідини, тверді горючі та важкогорючі речовини і матеріали. Категорія Д. Негорючі речовини та матеріали в холодному стані. Клас П-І — це приміщення, де є горючі рідини з температурою спалаху парів понад 61°C.

Засоби пожежогасіння. Гранична площа захисту від пожежі складає 1800 м² для приміщень категорії Д, 400 м² – для приміщень категорії В. Бочки з водою встановлюються на території підприємства. На входу у цех встановлений один пожежний щит, що включає в себе вогнегасник, відро, лопату, багри, ящик із сухим піском.

В залежності від категорії приміщення з пожежовибухонебезпеки та класу можливих пожеж, передбачені наступні засоби пожежогасіння:

- пожежні сповіщувачі: ручні – кнопка; автоматичні – теплові.
- переносні вуглекислотні вогнегасники марки ОУ-5 в кількості 8 шт. та переносні порошкові вогнегасники марки ОП-5 в кількості 8 шт. Встановлені у виробничому цеху 3 вогнегасники марки ОУ-5 та 3 - марки ОП-5), у відділенні оформлення та упакування готової продукції (2 вогнегасники марки ОУ-5 та 2 - марки ОП-5), на складі готової продукції (3 вогнегасники марки ОУ-5 та 3 - марки ОП-5).
- система пожежогасіння: внутрішня – від пожежних кранів, встановлених на мережі внутрішнього протипожежного водопроводу; зовнішня – від пожежних гідрантів, встановлених на зовнішній мережі протипожежного постачання.

5.3 Охорона навколишнього середовища

Територія підприємства повинна відповідати СанПіН 42-128-4690-88.

Територія харчового підприємства за своїм функціональним використанням повинна поділятися на такі зони: передзаводську, виробничу, підсобно-складську.

У передзаводській зоні розміщуються будинок управління і санітарно-побутові приміщення, контрольно-пропускний пункт, майданчик для стоянки власного транспорту.

У виробничій зоні – виробничі приміщення, ремонтно-механічні майстерні.

У підсобно-складській зоні – будинки та споруди підсобного призначення (котельня, градирні, насосні станції, склади мастильних засобів, палива, навіси для

зберігання резервних та будівельних матеріалів, тари).

У самотійній зоні виділяються: зона суворого режиму навколо артсвердловин, запасних резервуарів для питної води, а також захисна зона навколо очисних споруд. Територія підприємства у нічний час освітлюється відповідно до діючих норм.

Майданчики для зберігання палива, тари, будматеріалів тощо повинні мати бетонне або асфальтове покриття.

Санітарні розриви від відкритих складів твердого палива та інших матеріалів, які утворюють пил, повинні бути на відстані не менше як 50 метрів до найближчих отворів виробничих приміщень, та 25 метрів – до отворів побутових приміщень.

Вільні ділянки території повинні бути використані для організації зони відпочинку, озеленення їх деревами, кущами та газонами. Територію підприємства вздовж огорожі також слід озеленяти кущами та деревами.

Не допускається насадження дерев та кущів, які дають при цвітінні опушене насіння і волокна, що можуть засмічувати обладнання і продукцію.

Для збирання сміття встановлюють сміттєзбірники (металеві бачки з кришками, металеві контейнери, бетонвані ящики з кришками, які щільно закриваються і з водонепроникним дном, а також пластмасові ємкості або контейнери з кришками) на асфальтованому або бетонваному майданчику, площа якого повинна переверщувати основи сміттєзбірників на 1 м в усі боки.

Майданчик, на якому розміщено сміттєзбірник, необхідно з трьох боків огородити бетонваною або цегляною стіною заввишки 1,5 м.

Сміттєзбірники повинні бути віддалені від виробничих і складських приміщень на відстань не меншу як 30 метрів.

Видаляти відходи і сміття із сміттєзбірників слід щоденно з наступним миттям і дезінфекцією сміттєзбірників та майданчика, на якому вони розташовані. При централізованому збиранні сміття сміттєзбірники і контейнери доставляються на підприємство чистими та продезінфікованими. Санітарну обробку їх проводять спеціалізовані підприємства комунального господарства.

Сміттєзбірники, дворові вбиральні щоденно дезінфікують 10 % розчином

хлорного вапна або 20 % розчином свіжопогашеного вапна.

Територію підприємства слід утримувати у чистоті, прибирання провадити щоденно. В теплу пору року, у міру необхідності, здійснювати полив території і зелених насаджень. В зимовий період проїжджу частину території та пішохідні доріжки систематично слід очищати від снігу, льоду, які необхідно посипати піском.

Під'їзні шляхи, тротуари, господарські майданчики, навантажувальні рампи повинні бути покриті твердим покриттям або асфальтовані. Проїжджа частина на території підприємства споруди повинні сприяти виключенню зустрічних транспортних потоків сировини та готової продукції з паливом, відходами, сміттям.

На підприємствах малої потужності виробниче, енергетичне господарство і адміністративно-побутові приміщення допускається розташовувати в одному блоці (контейнери, модулі тощо). В додаткових блоках можуть бути розміщені лабораторії, майстерні, холодильні камери, камери дозрівання твердих сирів, їдальня тощо.

Санітарно-захисні зони для підприємств малої потужності вирішуються в кожному конкретному випадку окремо за погодженням з місцевими органами санітарного нагляду [53].

Опалення, вентиляції та кондиціонування повітря виробничих приміщень

Приміщення цеху опалюється за допомогою повітряної системи опалення, задовольняє вимоги СНіП і не підлягає перерахунку.

Північна частина цеху опалюється з допомогою водяної системи опалювання, відповідає вимогам СНіП і не підлягає перерахунку.

Опалення призначене для забезпечення температурних умов у приміщенні відповідно до вимог санітарних норм у холодну та перехідну пори року . Приміщення цеху опалюється за допомогою повітряної системи опалення, задовольняє вимоги СНіП і не підлягає перерахунку.

Опалюватись може все приміщення, а також окремі робочі місця.

Системи вентиляції, опалення і кондиціонування повітря у комплексі з технологічними заходами щодо зменшення шкідливих виробничих речовин разом

з архітектурно-планувальними та конструктивними рішеннями будівель і приміщень забезпечують метеорологічні умови і вміст шкідливих речовин у повітрі робочої зони виробничих приміщень у відповідності до нормативних вимог.

Призначення вентиляції – забезпечит чистоту повітря і певні метеорологічні умови у приміщеннях. За допомогою вентиляції видаляється забруднене або нагріте повітря із приміщення та подається свіже. Залежно від способу переміщення повітря вентиляція може бути природною, механічною або змішаною.

Кондиціонування повітря – це створення і автоматична підтримка у приміщеннях незалежно від зовнішніх умов постійних або змінних за відповідною програмою температури» вологості, найбільш придатних для людини та нормального проходження технологічного процесу [56].

Водопостачання, каналізації та очистки виробничих стічних вод

Водопостачання підприємств повинно проводитися приєднанням їх до централізованої мережі водопроводу. Якість води, використовуваної для технологічних, питних і господарсько-побутових потреб, має відповідати вимогам санітарних правил і норм (СанПіН 2.1.4.1074-01 «Питна вода. Гігієнічні вимоги до якості води централізованих систем питного водопостачання. Контроль якості» або СанПіН 2.1.4.544 -96 «Гігієнічні вимоги до якості питної води при нецентралізованому водопостачанні»). Артезіанські свердловини і запасні резервуари повинні мати зони санітарної охорони не менше 25 м. За їх санітарно-технічним станом і за якістю води, що подається в резервуари і виробничі цехи, повинен бути встановлений систематичний контроль у строки, встановлені органами держсанепіднагляду (хімічний аналіз проводиться не рідше одного разу на квартал, бактеріологічний - не рідше одного разу на місяць). Залежно від епідеміологічної обстановки кратність аналізів може бути змінена, незалежно від джерела водопостачання. При цьому приміщення водяних баків для запасної води повинні бути ізольовані. Заводи харчової промисловості є великими споживачами води питної якості. Вода витрачається для технічних потреб і цілей, миття

обладнання, підлог, поливання території для задоволення господарсько-питних потреб працюючих, для гасіння пожеж.

Проектування водопроводу починається з визначення розрахункової витрати води, яку знаходять за нормами водоспоживання.

Нормою водоспоживання називають кількість води, яка відноситься до одиниці випускаючої продукції, до одиниці обладнання або витратою однією людиною.

Пристрій системи каналізації підприємства повинен відповідати вимогам СНиП «Каналізація. Зовнішні мережі та споруди», «Внутрішній водопровід і каналізація будинків».

Для видалення виробничих і господарсько-побутових стічних вод підприємства повинні бути приєднані до загальноміської каналізації або мати самостійну каналізацію та очисні споруди.

Внутрішня система каналізації виробничих та господарських побутових стічних вод повинна бути роздільної з самостійним випуском в дворову мережу.

Забороняється скидання у відкриті водойми виробничих і побутових вод без відповідного очищення, а також пристрій поглинаючих колодязів.

Каналізація промислового підприємства складається з внутрішньої і зовнішньої стіни. Система внутрішньої каналізації призначена для прийому стічних вод у місце їхнього утворення і транспортування їх за межі будинку. Внутрішня каналізація закінчується оглядовим колодязем на відстані 3-10м від зовнішньої стіни будинку [57].

Зовнішньою каналізацією підприємства називають комплекс будівель, до складу яких входять двірська мережа підземних каналізаційних трубопроводів з колодязями, місцевих (локальних) очисних споруджень.

Зовнішня каналізація проектуемого починається від оглядових колодязів, до яких підключена внутрішня система каналізації, і закінчується місцем викиду стічних вод на поза площадкові очисні споруди. Проектування системи каналізації починають з визначення розрахункової витрати стічних вод. По такій витраті визначають діаметр трубопроводів.

Витрати стічної води завжди трішки менше потужності водопроводу, який постачає підприємство чистою водою. Частина чистої води втрачається на витік, випаровування з мокрих поверхонь, на поливання території, використовується як складовий компонент виробленої продукції.

РОЗДІЛ 6. ІНВЕСТИЦІЙНА ПРИВАБЛИВІСТЬ ПРОЕКТУ

Обґрунтування проекту та визначення прибутку від його реалізації

Практична реалізація інноваційного проекту передбачає всебічне дослідження можливостей та загроз, які реально або потенційно можуть вплинути на його комерційний успіх.

Потенційний комерційний успіх реалізації проекту по виробництву розробленої інноваційної продукції спирається на значну кількість аргументів.

Медичне застосування. ЛФ виявляє потенційну медичну цінність. Він володіє антибактеріальними, антивірусними, протизапальними та імуномодулюючими властивостями. Такі властивості роблять його привабливим для використання в медичних препаратах для лікування різних захворювань.

Зростаючий попит. У світі спостерігається підвищення попиту на інноваційні медичні препарати. За останні роки зросла свідомість про важливість здорового способу життя та використання натуральних інгредієнтів у лікуванні. ЛФ, як натуральний білок, відповідає цим тенденціям і має потенціал стати популярним медичним препаратом.

Унікальність продукту. ЛФ є рідкісним білком, який можна виготовляти з молока або сироватки. Його унікальні властивості, особливо в контексті медичного застосування, створюють значну конкурентний перевагу. Медичні препарати на основі лактоферину можуть відрізнятися від інших на ринку та мати високу ефективність.

Дослідницький потенціал. ЛФ є предметом активних наукових досліджень. Багато досліджень проводиться для вивчення його можливих медичних застосувань та потенційних переваг. Це вказує на його перспективу як медичного препарату і відкриває можливості для подальшого розвитку і вдосконалення.

Потенційний ринок. ЛФ, як медичний препарат і дієтична добавка, може мати широкий спектр застосувань в лікуванні різних захворювань, включаючи імунні порушення, запальні процеси, онкологічні захворювання та інші. Це дозволяє отримати доступ до різних спеціалізованих медичних ринків і залучити різні категорії пацієнтів.

Можливості експорту. Препарати, засновані на лактоферині, можуть мати потенціал для експорту на міжнародний ринок. Запит на інноваційні лікувальні засоби постійно зростає, і висока якість та ефективність лактоферину можуть привернути увагу іноземних споживачів.

Підтримка медичних організацій. В Україні та в багатьох інших країнах діє розвинена система організацій, які працюють над впровадженням нових технологій та препаратів. Препарат на основі лактоферину може отримати підтримку та рекомендації від таких організацій, що сприятимуть його прийняттю та використанню в клінічній практиці.

Довгостроковий потенціал. ЛФ може мати довгостроковий потенціал у зв'язку з постійними науковими дослідженнями та розвитком нових технологій. Це створює можливість для постійного вдосконалення та розширення сфери використання лактоферину.

Визначення обсягу виробної продукції та доходів від її реалізації

З урахуванням високого ступеня невизначеності ринкового середовища, а також пілотності проекту, заплануємо обсяг виробництва продукції в розмірі 10 тонн на рік (мінімально доцільний).

При конкурентній ціні 1 кг нової продукції в розмірі 1800 грн (491 грн за 1 курс) плановий обсяг виробленої продукції у вартісному виразі (дохід) складе:

$$РП = 10 * 1800 = 18000 \text{ тис. грн.}$$

Визначення поточних витрат (собівартості продукції) в результаті реалізації проекту

Формування поточних витрат проекту, що пов'язано з комерціалізацією інноваційного проекту, викликані необхідністю установки нового устаткування, витратами матеріальних ресурсів, залученням додаткового персоналу та відповідними витратами на оплату праці та відрахуваннями на соціальні заходи, а також рядом інших, переважно, накладних витрат.

Визначимо поточні витрати проекту (собівартість нової продукції) в розрізі елементів витрат, а саме:

- матеріальні витрати (витрати сировини, основних та допоміжних матеріалів, тари та пакування, енергоресурсів на технологічні цілі);
- витрати на оплату праці,
- відрахування на соціальні заходи (єдиний соціальний внесок),
- амортизація
- інші витрати.

Визначимо спочатку прямі матеріальні витрати (витрати на сировину та матеріали) виходячи з рецептури впроваджуваної продукції (табл. 6.1).

Таблиця 6.1 – Розрахунок витрат сировини та матеріалів

Сировина	Кількість на 1 тонну (без врахування втрат)	Ціна, грн/кг	Вартість на 1 тонну, грн
ХВПВ	923	27	24921
ЛФ	77	10525	810425
Разом	1000		835346

Загальна вартість сировини на плановий обсяг виробництва складе $835346 \cdot 10 / 1000 = 8353,5$ тис. грн.

До складу прямих матеріальних витрат включаються також витрати на транспортування сировини, тару та пакування, частина технологічних та організаційних втрат, витрати на допоміжні матеріали. Дана частина витрат через ряд об'єктивних причин не може бути визначена прямим шляхом (через нормування), а тому доцільним в даному випадку є непряме визначення зазначених витрат.

Заплануємо зазначені витрати в розмірі 20 % від прямих витрат на сировину (визначені прямим шляхом):

$$МВ_{ін} = 8353,5 \cdot 0,2 = 1670,7 \text{ тис. грн.}$$

Таким чином, загальний розмір прямих матеріальних витрат складе:

$$МВ = 8353,5 + 1670,7 = 10024,2 \text{ тис. грн.}$$

Витрати на оплату праці та відповідні відрахування на соціальні заходи з урахуванням незначного планового зростання обсягів виробленої продукції, не зміняться, за виключенням додаткових витрат на оплату праці та відрахування на соціальні заходи, викликані установкою нового устаткування, що буде визначено нижче.

Зміна амортизаційних витрат також викликана установкою нового устаткування та буде визначена нижче.

Виходячи із складу можливих витрат, які включаються до «інших» та сутності впроваджуваного проєкту, даний елемент витрат включатиме роялті – плату (щорічну) за використання об’єкту інтелектуальної власності, тобто плату за впровадження винаходу у виробництво. З огляду на практику залучення подібних об’єктів інтелектуальної власності (винаходи, корисні моделі) заплануємо даний вид витрат в розмірі 3 % від обсягів виробленої продукції, що складе $18000 \cdot 0,03 = 540,0$ тис. грн.

Реалізація проєкту також можливо потребуватиме залучення позикових коштів та, відповідно, виплати відсотків по ним, що також визначатиме загальний розмір «інших» витрат. З урахуванням того, що загальні інвестиційні витрати, а отже необхідність залучення кредитних ресурсів, будуть визначені нижче, потребу в кредитних ресурсах та можливі відсотки за ними, також визначимо нижче.

Далі визначимо зміну поточних витрат, викликану установкою нового устаткування, а саме:

- амортизація устаткування;
- витрати на поточний ремонт устаткування;
- витрати на утримання та експлуатацію устаткування;
- витрати на енергоресурси, що споживаються устаткуванням (відповідно до норм споживання, терміну використання та тарифів);
- витрати на оплату праці (відповідно до норм обслуговування устаткування та тарифних ставок);
- відрахування на соціальні заходи (22 % від витрат на оплату праці).

Техніко-економічна характеристика впроваджуваного устаткування наведена в таблиці 6.2.

Таблиця 6.2 – Техніко-економічна характеристика впроваджуваного устаткування

Показник	Устаткування
----------	--------------

	Реактор	Сушарка	Лінія фасування фармацевтичних препаратів
Технічна норма продуктивності	5 кг/год.	10 кг/год.	50 уп./год.
Потужність струмоприймачів (споживання електроренергії), кВт/год	2,5	6	0,5
Чисельність обслуговуючого персоналу (норма обслуговування), осіб	0,5	0,5	0,5
Ціна придбання устаткування, грн.	80000	250000	520000
Кількість одиниць, шт.	2	1	1

Нормативно-довідкова інформація, використовувана при розрахунках представлена в таблиці 6.3.

Таблиця 6.3 – Нормативно-довідкова інформація використовувана для розрахунків

Показники	Значення
1. Норматив відрахувань у соціальні фонди (єдиний соціальний внесок), % від основної й додаткової зарплати.	22
2. Норма амортизації устаткування, %	20
3. Норма витрат на ремонтні роботи устаткування, %	3,0
4. Норма витрат по утриманню й експлуатації устаткування, %	1,5
5. Річний фонд робочого часу, годин	2000
6. Собівартість 1 кВт/год електроенергії, грн	3,45
7. Коефіцієнт використання інженерного ресурсу	0,8
8. Годинна тарифна ставка робітника, грн	62,8

Для розрахунку витрат по експлуатації устаткування зробимо розрахунок капітальних вкладень (інвестицій) по устаткуванню.

Капіталовкладення по устаткуванню (I_y) будуть сумою наступних видів витрат:

- вартість устаткування (C);
- транспортні витрати (Tp) – 3 % від вартості устаткування;
- монтажні роботи (Mn) – 4% від вартості устаткування;
- інші витрати (In) – 3% від вартості устаткування;

$$I_y = (80000 \cdot 2 + 250000 + 520000) + (80000 \cdot 2 + 250000 + 520000) \cdot 0,03 + (80000 \cdot 2 + 250000 + 520000) \cdot 0,04 + (80000 \cdot 2 + 250000 + 520000) \cdot 0,03 = 1023000$$
 грн.

Амортизація впроваджуваного устаткування:

$$A_y = 1023000 * 0,20 = 204600 \text{ грн.}$$

Витрати на ремонтні роботи із впроваджуваного устаткування:

$$P_y = 1023000 * 0,03 = 30690 \text{ грн.}$$

Витрати по утриманню й експлуатації впроваджуваного устаткування:

$$C_{ye} = 1023000 * 0,015 = 15345 \text{ грн.}$$

Витрати по електроенергії, що споживається устаткуванням визначимо в наступній таблиці (табл. 6.4)

Таблиця 6.4 – Витрати по електроенергії, що споживається устаткуванням

Найменування енергоресурсу	Од. вим.	Річне споживання	Вартість одиниці, грн	Річні витрати, грн
Електроенергія	кВт/год	$2000 * (2,5 * 2 + 6 + 0,5) * 0,8 = 18400$	3,45	63480

Основна і додаткова заробітна плата робітників, що обслуговують устаткування (Зод):

$$\text{Зод} = \text{ТС}_{\text{год}} * (1 + \text{Кпд}) * \text{Фр} * (1 + \text{Кд}),$$

де $\text{ТС}_{\text{год}}$ – годинна тарифна ставка, грн.

Фр – річний фонд робочого часу одного працівника, годин

Кпд – коефіцієнт для визначення премій і доплат, 0,2

Кд – коефіцієнт для визначення додаткової заробітної платні, 0,15.

$$4.1. \text{Зод} = 62,8 * (0,5 + 0,5) * (1 + 0,15) * (1 + 0,2) * 2000 * 2 = 346656,0 \text{ грн.}$$

Відрахування до соціальних фондів на основі заробітної платні робітників, що обслуговують устаткування (єдиний соціальний внесок) (Всф):

$$\text{Всф} = 346656 * 0,22 = 76264,3 \text{ грн.}$$

В таблиці 6.5 визначимо сумарні поточні витрати по устаткуванню.

Таблиця 6.5 – Сумарні витрати за рік по впроваджуваному устаткуванню

Найменування	Сума, грн
Амортизація устаткування	204600,0
Витрати на ремонтні роботи по устаткуванню	30690,0

Витрати по утриманню й експлуатації устаткування	15345,0
Витрати по електроенергії, що споживається устаткуванням	63480,0
Основна й додаткова зарплата робітників, що обслуговують устаткування	346656,0
Відрахування в соціальні фонди на основі зарплати робітників, що обслуговують устаткування (єдиний соціальний внесок)	76264,3
Разом	737035,3

До складу виробничої собівартості продукції окрім визначених вище витрат, включаються «загальновиробничі витрати» – комплексні (багатоелементні) витрати, розмір яких визначимо непрямым шляхом в розмірі 30 % від суми поточних витрат, розрахованих вище, за виключенням прямих матеріальних витрат та роялті (не є структурним елементом виробничої собівартості):

$$Вз = 737035,3 * 0,3 = 221,1 \text{ тис. грн.}$$

Виробнича собівартість

Виробничу собівартість визначимо як суму усіх попередніх витрат (витрат по усіх попередніх статтях окрім роялті).

$$Свир = 10024,2 + 737035,3/1000 + 221,1 = 10982,3 \text{ тис. грн.}$$

Адміністративні витрати, витрати на збут, інші витрати основної діяльності, проценти за кредитом

Адміністративні витрати (Вадм), витрати на збут (Взб), інші операційні витрати (Він) визначимо також непрямым шляхом на основі середньогалузевого покриття даних витрат: адміністративні витрати 10% від виробничої собівартості, витрати на збут 20 % від виробничої собівартості та інші операційні витрати 5 % від виробничої собівартості.

$$Вадм = 10982,3 * 0,1 = 1098,2 \text{ тис. грн.}$$

$$Взб = 10982,3 * 0,2 = 2196,5 \text{ тис. грн.}$$

$$Він = 10982,3 * 0,05 = 549,1 \text{ тис. грн.}$$

Розрахунок повної собівартості продукції представимо в табл. 6.6.

Таблиця 6.6 – Розрахунок повної собівартості продукції

Стаття витрат	Сума, тис. грн
Сировина та інші прямі матеріальні витрати	10024,2
Енергоресурси на технологічні цілі	63,5
Основна і додаткова заробітна плата	346,7

Відрахування на соціальні заходи	76,3
Амортизація обладнання	204,6
Загальновиробничі витрати	221,1
Інші витрати	46,0
Виробнича собівартість	10982,3
Адміністративні витрати	1098,2
Витрати на збут	2196,5
Інші операційні витрати (в т.ч. роялті)	1089,1
Повна собівартість	15366,1

Визначення прибутку

Плановий прибуток визначимо як різницю між обсягами реалізації продукції (РП) та повною собівартістю (Спов) за формулою:

$$5. \Pi = \text{РП} - \text{Спов}$$

$$\Pi = 18000 - 15366,1 = 2633,9 \text{ тис. грн.}$$

Планова рентабельність продукції складе:

$$\text{Рпр} = \Pi / \text{Сповн} * 100\% = 2633,9 / 15366,1 * 100\% = 17,1 \%$$

Плановий чистий прибуток в результаті реалізації проекту складе:

$$\text{ЧП} = \Pi - \Pi * 0,18,$$

де 0,18 – відсоткова ставка податку на прибуток, %

$$\text{ЧП} = 2633,9 - 2633,9 * 0,18 = 2159,8 \text{ тис. грн.}$$

2. Оцінка економічної ефективності проекту

Для оцінки економічної ефективності проекту визначимо загальну суму інвестиційних витрат (Ізаг).

$$\text{Ізаг} = \text{Іін} + \text{Івир}$$

де Іін – інноваційний бюджет;

Івир – інвестиції в виробництво для впровадження результатів НДР.

Інноваційний бюджет (Іін) визначимо наступним чином:

$$\text{Іін} = \text{Вкон} + \text{Цндр} + \text{Векс} + \text{Всерт} + \text{Впат},$$

де Вкон – витрати на формування концепції (30% від Цндр);

Цндр – ціна

НДР;

Векс – витрати на експериментальне дослідження (50% від Цндр);

Всерт – витрати на сертифікацію (10% від Цндр);

Впат – Витрати на патентування (20% від Цндр).

Основою інноваційного бюджету є ціна НДР (Цндр).

Ціну НДР визначимо за формулою:

$$\text{Цндр} = \text{Вндр} + \text{П} + \text{ПДВ},$$

де Вндр – затрати на проведення НДР;

П – прибуток від НДР (планова рентабельність 20%);

ПДВ – податок на додану вартість (20%).

Вндр визначаємо на основі витрат на проведення НДР, які складаються із наступних статей: матеріали, паливо та енергія, заробітна плата (основна і додаткова), відрахування на соціальні заходи, амортизаційні відрахування, інші і накладні витрати.

Витрати на сировину

Витрати на сировину визначаємо виходячи із необхідних матеріалів для проведення дослідів. Результати наведені в таблиці 6.7.

Таблиця 6.7 – Розрахунок вартості сировини

Вид сировини	Витрати, кг	Ціна за одиницю, грн	Загальна вартість, грн
Харчові волокна	3	27	81
Лактоферин	0,25	10525	2631,3
Разом			2712,3

Затрати на допоміжні матеріали:

- реактив Фоліна-Чокальтеу 200 грн;
- Na_2CO_3 150 грн;
- NaOH 100 грн;
- HCl 150 грн;
- NaHCO_3 150 грн;
- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 200 грн;
- NaOH 80 грн;
- К-тартрат 120 грн;
- пепсин 150 грн;
- трипсин 100 грн;

- тирозин 150 грн;
- трихлороцтова кислота 100 грн;
- фільтрувальний папір 100 грн;

Загальні затрати на сировину і додаткові матеріали для проведення дослідів складуть:

$$\text{Вмат заг} = 2712,3 + 150 + 100 + 150 + 150 + 200 + 80 + 120 + 150 + 100 + 150 + 100 + 150 + 100 + 100 = 4462,3 \text{ грн.}$$

Витрати на електроенергію

Витрати на електроенергію визначимо за формулою:

$$\text{Вел} = \Sigma (\tau * \eta) * T,$$

де τ – кількість годин роботи приладу, год

η – паспортна потужність електродвигуна приладу, кВт

T – тариф на електроенергію (3,45) грн / кВт*год

Таблиця 6.8 – Витрати на електроенергію

Найменування устаткування	Потужність електродвигуна, кВт	Час експлуатації обладнання, год	Витрата електроенергії, кВт*год
Спектрофотометр	0,5	2	1
Центрифуга	0,5	2	1
Термостат	1	10	10
Аналітичні ваги	0	2	0
Портативний рН-метр	0	5	0
Разом			12

$$\text{Вел} = 12 * 3,45 = 41,4 \text{ грн.}$$

Витрати на заробітну плату

Витрати по заробітній платі визначаються як сума заробітної плати усіх учасників НДР. Склад учасників, ступінь їх участі у НДР та заробітна плата наведені у таблиці 6.9.

Таблиця 6.9 – Розрахунок оплати праці усіх учасників НДР

Учасники НДР	Заробітна плата, грн/міс	Тривалість роботи, міс	Ступінь участі, %	Оплата праці за НДР, грн
--------------	--------------------------	------------------------	-------------------	--------------------------

Студент-дослідник	7000	3	100	21000
Науковий керівник	15000	3	20	9000
Науковий керівник з економічної кафедри	12000	3	5	1800
Лаборант	7500	3	50	11250
Всього				43050,0
Єдиний соціальний внесок 22%				9471,0

Амортизаційні відрахування

Обладнанням користуються в лабораторії університету протягом 3 місяців. Норма амортизації складає 20% на рік від вартості технологічних машин та механізмів і 5% від вартості приміщення.

$$A = A_o + A_{\text{п}}$$

де A_o – амортизаційні відрахування при використанні обладнання;

$A_{\text{п}}$ – амортизаційні відрахування при використанні приміщення.

$$A_o = C_o * 0,2$$

де C_o – ціна обладнання

$$C_o = C_{\text{зміш}} + C_{\text{терм}}$$

В таблиці 6.10 наведена вартість лабораторного обладнання.

Таблиця 6.10 – Вартість лабораторного обладнання

№	Назва обладнання	Вартість лабораторного обладнання, грн
1	Спектрофотометр	8500
2	Центрифуга	5800
3	Термостат	9000
4	Аналітичні ваги	800
5	Портативний рН-метр	1200
Разом		25300

Амортизація обладнання становитиме:

$$A_o = 25300 * 0,2 = 5060 \text{ грн/рік.}$$

Амортизація приміщення (річна)

$$A_{\text{п}} = C_{\text{п}} * S * 0,05$$

де $C_{\text{п}}$ – ціна за 1 м² приміщення (12000 грн.)

S – площа лабораторії (46 м²)

$$A_{\text{п}} = 12000 * 46 * 0,05 = 27600 \text{ грн.}$$

Виходячи з того що обладнання і лабораторія використовується 3 місяці, амортизаційні відрахування, які включатимуться у витрати НДР, складуть:

$$A_o = 5060 * 3 / 12 = 1265 \text{ грн.}$$

$$A_{\Gamma} = 27600 * 3 / 12 = 6900 \text{ грн}$$

$$A = 1265 + 6900 = 8165 \text{ грн.}$$

Інші витрати

Інші витрати заплануємо в розмірі 10% від суми розрахованих вище витрат НДР:

$$В_{ін} = 0,1 * (4462,3 + 41,4 + 43050,0 + 9471,0 + 8165,0) = 6519,0 \text{ грн.}$$

Накладні витрати заплануємо в розмірі 20% від суми витрат НДР за статтями 1-6:

$$В_{накл} = 0,2 * (4462,3 + 41,4 + 43050,0 + 9471,0 + 8165,0 + 6519,0) = 14341,7 \text{ грн.}$$

В таблиці 6.11 визначимо загальні інноваційні витрати по проекту.

Таблиця 6.11 – Витрати на проведення НДР

№	Найменування	Сума, грн
1	Сировина і матеріали	4462,3
2	Електроенергія	41,4
3	Заробітна плата	43050,0
4	Відрахування на соціальні заходи	9471,0
5	Амортизація	8165,0
6	Інші витрати	6519,0
7	Накладні витрати	14341,7
Разом		86050,3

Таким чином, витрати НДР складуть 84658,9 грн.

Розрахуємо ціну НДР.

Ціна НДР складає:

$$Ц_{ндр} = В_{ндр} + П_{ндр} + ПДВ_{ндр}$$

$$П_{ндр} = В_{ндр} * 0,2 = 86050,3 * 0,2 = 17210,1 \text{ грн.}$$

$$ПДВ_{ндр} = (В_{ндр} + П_{ндр}) * 0,2 = (86050,3 + 17210,1) * 0,2 = 20652,1 \text{ грн.}$$

$$Ц_{ндр} = 86050,3 + 17210,1 + 20652,1 = 123912,5 \text{ грн.}$$

Визначимо нижче інші складові інноваційного бюджету.

$$В_{кон} = 123912,5 * 0,3 = 37173,7 \text{ грн.}$$

$$В_{екс} = 123912,5 * 0,5 = 61956,2 \text{ грн.}$$

$$В_{серт} = 123912,5 * 0,1 = 12391,2 \text{ грн.}$$

$$В_{пат} = 123912,5 * 0,2 = 24782,5 \text{ грн.}$$

Інноваційний бюджет складе:

$I_{ін} = 123912,5 + 37173,7 + 61956,2 + 12391,2 + 24782,5 = 260216,2$ грн = 260,2 тис. грн.

Визначення інвестицій для впровадження у виробництво:

$$I_{вир} = I_{овф} + I_{ок} + I_{рек}$$

де $I_{оз}$ – інвестиції в основні засоби;

$I_{ок}$ – інвестиції у оборотні кошти;

$$I_{оз} = I_{буд} + I_{уст}$$

де $I_{буд}$ – інвестиції в будівництво ($I_{буд} = 0$);

$I_{уст}$ – інвестиції в устаткування (1023,0 тис. грн).

Інвестиції у оборотні кошти заплануємо у розмірі 10% від доходу від реалізації продукції:

$$I_{ок} = 18000 * 0,1 = 1800,0 \text{ тис. грн.}$$

Інвестиції у виробництво:

$$I_{вир} = 1023,0 + 1800,0 = 2823,0 \text{ тис. грн.}$$

Загальна сума інвестиційних витрат:

$$I = I_{ін} + I_{вир} = 2823,0 + 260,2 = 3083,2 \text{ тис. грн.}$$

З урахуванням значного ступеня невизначеності зовнішнього середовища, в якості фінансового джерела реалізації проекту заплануємо банківський кредит (найбільш песимістичний з точки зору грошових потоків варіант реалізації інноваційного проекту).

Відсотки за використання кредитних ресурсів включаються до поточних витрат, та таким чином, зменшують плановий прибуток.

При середній відсотковій ставці по кредитах 25 %, витрати підприємства на виплату відсотків складуть $3083,2 * 0,25 = 770,8$ тис. грн.

Таким чином, скориговане значення прибутку від реалізації проекту складе:

$$P_{скориг} = 2633,9 - 770,8 = 1863,1 \text{ тис. грн.}$$

Скориговане значення чистого прибутку складе:

$$ЧП_{скориг} = 1863,1 - 1863,1 * 0,18 = 1527,7 \text{ тис. грн.}$$

Економічну ефективність та інвестиційну привабливість впровадження проекту оцінимо за показником строку окупності інвестицій (Т):

$$T = I/ЧП_{\text{скориг}} = < 3$$

де I – інвестиції на реалізацію проекту;

ЧП – чистий прибуток від реалізації проекту.

Якщо дане співвідношення виконується то можна вважати інвестиції ефективними.

В даному випадку $T = 3083,2/1527,7 = 2,02$ року.

Таким чином, можна стверджувати, що проект є ефективним.

В таблиці 6.12 наведемо основні показники реалізації проекту.

Таблиця 6.12 – Основні техніко-економічні показники проекту

Показник	Значення
1.Обсяг реалізації продукції, тис. грн	18000
2. Інвестиції в розробку інновації, тис. грн	260,2
3. Інвестиції для впровадження інновацій у виробництво, тис. грн, в т.ч.	2823
інвестиції в основні засоби, тис. грн	1023
інвестиції в оборотні кошти, тис. грн	1800
4. Собівартість продукції, тис. грн	16136,9
5. Прибуток від реалізації проекту, тис. грн	1863,1
6. Чистий прибуток від реалізації проекту, тис. грн	1527,7
7. Рентабельність продукції, %	11,5
8. Термін окупності інвестицій, років	2,02
9. Рентабельність інвестицій, %	49,6

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 6

Проведені в роботі розрахунки свідчать про високу економічну ефективність та інвестиційну привабливість запропонованого проекту, а саме:

– обсяг реалізованої продукції становитиме 18000 тис. грн при її собівартості 16136,9 тис. грн, що дозволить отримати прибуток в розмірі 1863,1 тис. грн;

– необхідні для впровадження проекту інвестиційні витрати в розмірі 3083,2 тис. грн окупляться протягом 2,02 року, тобто менше 3 років, що є ознакою високої інвестиційної привабливості проекту.

Таким чином, можна зробити висновок про господарську доцільність практичної реалізації запропонованого проекту.

ВИСНОВКИ

1. ЛФ – це функціональний глюकोпротеїд, який має позитивний вплив на організм людини завдяки наявності широкої низки фізіологічних ефектів, який потребує стабілізації. Молекула ЛФ розпадається під дією травних ферментів шлунково-кишкового тракту, тому його біодоступність досить обмежена. Тому актуальною є розробка способу стабілізації ЛФ шляхом комплексоутворення з препаратами харчових волокон та окремими некрохмальними полісахаридами.

2. Розроблено спосіб іммобілізації БПЛФ шляхом комплексоутворення з ХВЧП та некрохмальними полісахаридами арабіногалактаном, пектином, альгінатом натрію, агаром, ксантаном, гуаровою камеддю та хітозаном. Доведено, що іммобілізація БПЛФ на концентраті ХВЧП та препаратах окремих полісахаридів дозволить підвищити стійкість ЛФ до дії травних ферментів, що сприятиме пролонгації його експозиції у шлунково-кишковому тракті людини та доставці у зону товстого кишківника у незмінному вигляді і забезпечить підвищення його біодоступності

3. Розроблена технологія виробництва дієтичної добавки – стабілізованого ЛФ на ХВЧП. Обґрунтовано показники якості якості та безпечності дієтичної добавки ЛФ-ХВЧП: органолептичні характеристики, з фізико-хімічних показників нормовано масову частку вологи, білка, ЛФ, ку вуглеводів (ХВ), сирого жиру, фенольних речовин, золи, вміст сторонніх домішок не допускається. З небезпечних речовин регламентовано вміст токсичних металів і радіонуклідів, з мікробіологічних показників – норми КМАФАнМ, БГКП (коліформи), патогенних мікроорганізмів, у тому числі *Salmonella*, дріжджів і пліснявих грибів.

4. Розроблено план НАССР технології виробництва дієтичної добавки ЛФ-ХВЧП. До плану НАССР віднесено дві КТК на операціях сушіння дієтичної добавки й її фасування у ємності. На цих обох етапах ризиками є небезпечна мікрофлора. У результаті недотримання умов сушіння комплексу ЛФ-ХВЧП небезпеку може скласти залишкова мікрофлора, зокрема патогенна. При фасуванні добавки і закупування з нею ємності необхідно забезпечити асептичні умови робочого приміщення. До ОПП віднесено приймання сировини за

супровідною документацією, а також необхідним є періодичний лабораторний контроль. Небезпечним чинником при прийманні субстанції ЛФ можуть бути патогенна мікрофлора. При прийманні ХВПВ необхідно контролювати вміст токсичних металів, мікотоксинів, пестицидів і радіонуклідів. До ОПІ включено операцію очищення ХВПВ від фізичних небезпек – феродомішок.

5. Визначено шляхи організації охорони праці та навколишнього середовища при виробництві дієтичних добавок.

6. Здійснено техніко-економічне обґрунтування ефективності дослідження та впровадження його у виробництво. Проведені в роботі розрахунки свідчать про високу економічну ефективність та інвестиційну привабливість запропонованої розробки, а саме обсяг реалізованої продукції становитиме 18000 тис. грн при її собівартості 16136,9 тис. грн, що дозволить отримати прибуток в розмірі 1863,1 тис. грн. Необхідні для впровадження проекту інвестиційні витрати в розмірі 3083,2 тис. грн окупляться протягом 2,02 року, тобто менше 3 років, що є ознакою високої інвестиційної привабливості проекту. Тобто, практична реалізація запропонованого проекту має господарську доцільність.

СПИСОК ВИКОРИСТАННЯ ДЖЕРЕЛ

1. Perrine J. What is the structure of milk? [Електронний ресурс] / Juillion Perrine // StudyBuff – Режим доступу до ресурсу: <https://studybuff.com/what-is-the-structure-of-milk/>.
2. Gateway to dairy production and products [Електронний ресурс] // Food and Agriculture Organization of the United Nation – Режим доступу до ресурсу: <https://www.fao.org/dairy-production-products/products/milk-composition/en/>.
3. БИОХИМИЯ МОЛОКА [Електронний ресурс] // DAIRY PROCESSING HANDBOOK – Режим доступу до ресурсу: <https://dairyprocessinghandbook.tetrapak.com/ru/chapter/biohimiya-moloka>
4. Vitamins, Minerals in Milk [Електронний ресурс] // Milk Facts – Режим доступу до ресурсу: <http://www.milkfacts.info/Milk%20Composition/VitaminsMinerals.htm?3e3ea140#:~:text=Milk%20contains%20the%20water%20soluble%20vitamins%20thiamin%20%28vitamin,good%20source%20of%20thiamin%2C%20riboflavin%20and%20vitamin%20B12.>
5. Лактоза [Електронний ресурс] – Режим доступу до ресурсу: <https://shop.soyka.ru/soykapedia/laktoza/>.
6. ROBERT G. JENSEN. SYMPOSIUM: MILK FAT-COMPOSITION, FUNCTION, AND POTENTIAL FOR CHANGE / ROBERT G. JENSEN, ANN M. FERRIS, CAROL J. LAMMI-KEEFE. // Journal of Dairy Science. – 1991.
7. O'Mahony J. Milk Proteins / J.A. O'Mahony, P.F. Fox– Science Direct, 2014.
8. Lönnerdal B. Casein content of human milk / B. Lönnerdal, E. Forsum // PubMed. – 1985.
9. Invited review: beta-lactoglobulin: binding properties, structure, and function./ G Kontopidis, C Holt, L Sawyer // PubMed. – 2004.
10. Farrell H.M., Bede M.J., Enyeart J.A. Binding of p-nitrophenyl phosphate and other aromatic compounds by β -LG. Journal of Dairy Science. 1987
11. Bio-nanoimaging Protein Misfolding and Aggregation / Corianne C. van den Akker, Gijsje H. Koenderink //, 2014. – (Science Direct).

12. Caffin, JP, Poutrel, B and Rainard, P 1985. Physiological and pathological factors influencing bovine α -lactalbumin and β -lactoglobulin concentrations in milk. *Journal of Dairy Science* 68, 1087 – 1094.

13. Markus R. Evening intake of alpha-lactalbumin increases plasma tryptophan availability and improves morning alertness and brain measures of attention / R. Markus, M. Jonkman, M. Lammers. // PubMed. – 2005.

14. The bovine protein alpha-lactalbumin increases the plasma ratio of tryptophan to the other large neutral amino acids, and in vulnerable subjects raises brain serotonin activity, reduces cortisol concentration, and improves mood under stress / R.Markus, B. Olivier, E. Panhuysen, J. Van Der Gugten. // PubMed. – 2000.

15. Bo Lönnerdal 1 , Eric L Lien Affiliation 1 Department of Nutrition, University of California, Davis, CA 95616, USA. PMID: 14552064 DOI: 10.1301/nr.2003.sept.295-305 Abstract alpha-Lactalbumin is the major protein in breast milk (20-25% of total protein) and has been described to have several physiologic functions in the neonatal period.

16. Effects of alpha-lactalbumin-enriched formula containing different concentrations of glycomacropeptide on infant nutrition / O.Sandström, B. Lönnerdal, G. Graverholt, O. Hernell. // PubMed. – 2008.

17. Nutritional and Physiologic Significance of α -Lactalbumin in Infants / Bo Lönnerdal PhD, Eric L. Lien PhD // Wiley Online Library. – 2003.

18. Butler J.E. Bovine immunoglobulins: An augmented review. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1983;4:43–152.

19. Gapper L.W., Copstake D.E.J., Otter D.E., Indyk H.E. Analysis of bovine immunoglobulin G in milk, colostrum and dietary supplements: A review. *Anal. Bioanal. Chem.* 2007;389:93–109

20. Hurley W.L. Immunoglobulins of the mammary secretions. In: Fox P.F., McSweeney P.L.H., editors. *Advanced Dairy Chemistry: Proteins*. 3rd. Kluwer Academic/Plenum Publishers; New York, NY, USA: 2003.

21. Bovine Serum Albumin (BSA) [Электронный ресурс] // Capricorn Scientific – Режим доступа до ресурсу: <https://www.capricorn-scientific.com/BSA>.

22. Long chain fatty acid binding to human plasma albumin./ J D Ashbrook, A A Spector, E C Santos, J E Fletcher // PubMed. – 1975.

23. Lactoferrin: structure, function and applications // Gonzalez'Chavez S.A., Arevalo'Gallegos S., Rascon' Cruz Q. // Int. J. Antimicrob. Agents. 2009.

24. Что такое лактоферрин и как его производят [Электронный ресурс] // Milknews. – 2021. – Режим доступа до ресурсу: <https://milknews.ru/longridy/lactoferrin.html>.

25. Baker H. M., Baker E. N. / BioMetals. 2004. V. 17. P. 209 – 216.

26. Anderson B. F., Baker H. M., Norris G. E., Rice D. W., Baker E. N. / J. Mol. Biol. 1989. V. 209. P. 711 – 734.

27. Лактоферрин: физико-химические свойства, биологические функции, системы доставки, лекарственные препараты и биологически активные добавки / N. V. Borzenkova, N. G. Balabushevich, N. I. Larionova., 2010.

28. Britigan B. E., Rosen G. M., Thompson B. Y., Chai Y., Cohen M. S. / J. Biol. Chem. 1986. V. 261. P. 17026 – 17032.

29. Gutteidge I. M. C., Paterson S. K., Segal A. W., Halliwell B. / Biochem. J. 1981. V. 199. P. 259 – 261

30. Molecular structure, binding properties and dynamics of lactoferrin // Baker E. N., Baker H. M. / Biochimie. 2009. V. 91. P. 3 – 10.

31. Polyelectrolyte complexes of lactoferrin and pH-sensitive microparticles on their basis // Anderson B. F., Baker H. M., Norris G. E., Rice D. W., Baker E. N. / J. Mol. Biol. 1989. V. 209. P. 711 – 734.

32. Structure of human lactoferrin at 3.2-Å resolution // Anderson B. F., Baker H. M., Dodson E. J., Norris G. E., Rumball S. V., Waters J. M., Baker E. N. / Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1987. V. 84. P. 1769 – 1773

33. Shimizu H. // BioMetals. 2004. V. 17. P. 343–347.

34. Kanwar J.R., Samarasinghe R.M., Rakesh Sehgal R., Rupinder K., Kanwar R.K. // J. Cancer. Sci. Ther. 2012. V. 4. P. 31–42.

35. Bengoechea C., Jones O.G., Guerrer A., McClements D.J. // Food Hydrocolloids. 2011. V. 25. № 5. 1227–1232.

36. Местечкина Н.М., Безбородова О.А., Ильина А.В., Левов А.Н., Клеймёнов С.Ю., Немцова Е.Р., Якубов' ская Р.И., Щербухин В.Д., Варламов В.П. // Прикл. биохимия и микробиология. 2011. Т. 47. № 6. Р. 699–706.

37. Anema S.G., (Kees) de Kruif C.G. // Soft Matter. 2012. V. 8. P. 4471–4478.

38. ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ЛАКТОФЕРРИНА И рн-ЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ МИКРОЧАСТИЦЫ НА ИХ ОСНОВЕ / Н. Г. Балабушевич, Н. В. Борзенкова, В. А. Изумрудов та ін. / ПРИКЛАДНАЯ БИОХИМИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ, 2014, том 50, № 2, с. 232–240, 2014.

39. Молекулярная биология. Практическое руководство. [Электронный ресурс] // Великов В.А.. – 2013. – Режим доступа до ресурсу: <https://lifelib.info/microbiology/practical/33.html>.

40. Kresge, N.; Simoni, R. D.; Hill, R. L. (2005). "The Most Highly Cited Paper in Publishing History: Protein Determination by Oliver H. Lowry". Journal of Biological Chemistry. 280 (28): e25.

41. Chernon N., Gural L., Naidonov O. Black wheat bran as a promising source of food fibres with an expanded spectrum of functionalities. Grain Products and Mixed Fodder's, 2020; 20 (4, 80): 11-17.

42. Dietary fibre in health and disease. In: Proc 1st Int Conf Dietary fibre / McCleary BV, Prosky L (Eds.), Kritchevsky D. Dublin, Ireland, Blackwell Science, Oxford, UK, 14–17 May, 2000. 38 p./

43. Пектин [Электронный ресурс] // Spicery Shop. – 2017. – Режим доступа до ресурсу: <https://spiceryshop.com.ua/content/enciclopedia/pektin>.

44. Гуарова камідь: користь і шкода, як використовувати в кулінарії, рецепти [Електронний ресурс] // Центр Ідей – Режим доступа до ресурсу: <https://ideas-center.com.ua/?p=25745>.

45. Eng M. Arabinogalactan Benefits + Foods, Dosage & Side Effects [Электронный ресурс] / Mathew Eng // SelfDecode. – 2021. – Режим доступа до ресурсу: <https://supplements.selfdecode.com/blog/arabinogalactan/>.

46. Structures, properties and application of alginic acid: A review [Електронний ресурс] // PubMed. – 2020. – Режим доступу до ресурсу: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32590090/>.

47. Agar [Електронний ресурс] // Britannica. – 2023. – Режим доступу до ресурсу: <https://www.britannica.com/topic/agar-seaweed-product>.

48. Torrens K. What is xanthan gum? [Електронний ресурс] / Kerry Torrens // GoodFood. – 2022. – Режим доступу до ресурсу: <https://www.bbcgoodfood.com/howto/guide/what-is-xanthan-gum>.

49. Chitosan: An Overview of Its Properties and Applications [Електронний ресурс] // PubMed Central. – 2021. – Режим доступу до ресурсу: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8512059/>.

50. Черно Н. К. Харчова хімія. Полісахариди. Навчальний посібник / Черно Н. К., Денісюк Н. О., Озоліна С. О., Севастьянова О. В., Гураль Л. С. – Одеса: Видавництво «Освіта», 2014. – 220 с.

51. Hazard Analysis Critical Control Point (НАССР) [Електронний ресурс] // U.S. Food & Drug Administration – Режим доступу до ресурсу: <https://www.fda.gov/food/guidance-regulation-food-and-dietary-supplements/hazard-analysis-critical-control-point-haccp>.

52. Закон України "Про загальнообов'язкове державне соціальне страхування від нещасного випадку на виробництві та професійного захворювання, які спричинили втрату працездатності".

53. Законодавство України про охорону праці (збірник нормативних документів. У 4 т. К.: Держнагляд охорони праці; Основа, 1995.

54. Кодекс законів про працю України. К.: Юрінком Інтер, 1998. -1040 с.

55. Основи біотехнології: підручник для студ. Освітнього рівня бакалавр спец. «Біологія»/ уклад. Н. Ю. Мацай. Луганськ: Держ. Закл. «Луган. Нац. Ун-т імені Тараса Шевченка». Луганськ: Вид-во ДЗ «ЛІНУ імені Тараса Шевченка», 2011. – 153 с.

56. ДСН 3.36.042-99. Санітарні норми мікроклімату виробничих приміщень.

57. СанПіН 4630 «Санітарні правила та норми охорони поверхневих вод від забруднення».

Протокол ідентифікації та оцінювання НЧ

Номер та назва стадії (операції)	Небезпечні чинники, що виникають, посилюються або контролюються на цій стадії (Б- біологічні, Х – хімічні, Ф – фізичні)	Джерела (причини, умови) виникнення посилення небезпечного чинника	Прийнятний рівень небезпечного чинника у кінцевому продукті	Обґрунтування прийнятного рівня	Заходи керування	Результати оцінки ризику			Суттєвість НЧ
						Істотність впливу, I _с	Ймовірність виникнення, P _в	Ступінь ризику, I _с P _в	
1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
1.1. Приймання ЛФ	Ф – сторонні домішки	Потрапляння під час фасування ЛФ і його транспортування	Пил та дрібне сміття – не допускається	Сертифікат відповідності	Гарантії постачальника, протоколи дослідження	2	0,1	0,2	Несуттєвий
	Х – токсичні метали, радіонукліди	Використання екологічно забрудненої сировини, недотримання технології виробництва	Токсичні метали (свинець, кадмій, миш'як ртуть) – не більше ніж 2 мг/кг. Радіонукліди, Бк/кг, не більше ніж: ¹³⁷ Cs – 200, ⁹⁰ Sr – 100.	Сертифікат відповідності	Гарантії постачальника, протоколи дослідження, періодичний контроль	3	0,1	0,3	Несуттєвий
	Б – сторонні та патогенні мікроорганізми	Порушення технології виробництва, фасування, зберігання, транспортування	МАФАнМ – 10×10^3 КУО/г; БГКП (коліформи) в 0,001 г (см ³) – не допускаються; <i>Salmonella</i> , в 25 г – не допускається; Плісеневі гриби і дріжджі – не більше 1000 КУО/г	Сертифікат відповідності	Гарантії постачальника, протоколи дослідження, періодичний контроль	3	0,2	0,6	Суттєвий
	А – відсутні	–	–	–	–	–	–	–	–

2.1 Приймання ХВЧП	Ф – сторонні домішки	Потрапляння під час виробництва, зберігання і транспортування	Пил, дрібне сміття, феродомішки – не допускаються	ТУ У «Дієтичні добавки»	Гарантії постачальника, протоколи дослідження	2	0,1	0,2	Несуттєвий
	Х – пестициди, мікотоксини, токсичні елементи, радіонукліди	Використання екологічно забрудненої сировини, недотримання технології виробництва	Токсичні метали, мг/кг, не більше (свинець – 2,0; кадмій –1,0; миш'як – 0,2; мідь –20; цинк – 130). Пестициди (А-НСН, G-НСН, В- НСН, гептахлор, альдрин, дільдрин, ДДТ) – не допускаються. Афлатоксин М ₁ – не більше 0,0005 мг/кг. Радіонукліди: ¹³⁷ Cs – 300, ⁹⁰ Sr – 80.	ТУ У «Дієтичні добавки»	Гарантії постачальника, протоколи дослідження, періодичний контроль	3	0,2	0,6	Суттєвий
	Б – сторонні та патогенні мікроорганізми	Порушення технології виробництва, умов зберігання і транспортування	МАФАНМ в 1 г/см ³ КУО – не більше 3,0·10 ³ ; Кишкова паличка в 0,001 г продукту – не допускається; Сальмонели в 25 г – не допускаються; пліснява та дріжджі, КУО в 1,0 г продукту – не допускаються; St. aureus в 1,0 г продукту – не допускається.	ТУ У «Дієтичні добавки»		3	0,1	0,3	Несуттєвий
	А – сліди глютену	Потрапляє з пшеничного зерна до висівок	Глютен не допускається	ТУ У «Дієтичні добавки»	Гарантії постачальника, протоколи дослідження	3	0,1	0,3	Несуттєвий
1.2, 22. Зберігання ЛФ, ХВЧП	Ф – відсутні	–	–	–	–	–	–	–	–
	Х – відсутні	–	–	–	–	–	–	–	–
	Б – сторонні та патогенні мікроорганізми	Порушення умов зберігання	МАФАНМ – 10 × 10 ³ КУО/г (ЛФ), 3,0×10 ³ (ХВЧП) БГКП (коліформи) в 0,001 г (см ³) – не допускаються; Salmonella, в 25 г – не допускається; Плісеневі гриби і дріжджі – не більше 1000 КУО/г (ЛФ)	Сертифікат відповідності на ЛФ, ТУ У «Дієтичні добавки»	Умови зберігання ЛФ: t = 2-8 °С, ω≤75 %, 2 роки. Умови зберігання ХВЧП: t ≤ 25 °С, ω≤75 %, 1 рік	3	0,1	0,3	Несуттєвий

	А – відсутні	–	–	–	–	–	–	–	–
1.3 Дозування ЛФ та перемішування розчину	Ф – відсутні	–	–	–	–	–	–	–	–
	Х – мийні та дезинфікувальні засоби	З обладнання	Не допускається, або дозволенні до використання згідно з програмами-передумовами.	–	Програми-передумови щодо санітарного стану поверхонь, використання дозволених МОЗ України мийних та дезинфікувальних засобів, їхнього дозування при приготування розчинів.	2	0,1	0,2	Несуттєвий
	Б – відсутні	–	–	–	–	–	–	–	–
	А – відсутні	–	–	–	–	–	–	–	–
2.3 Очищення ХВЧП	Ф – металеві домішки, металомагнітні домішки	Можуть потрапляти під час виходу з ладу сит і магнітних уловлювачів	Не дозволяються	ТУ У «Дієтичні добавки»	Використовувати сита відповідних розмірів, їх вчасно очищувати. Металомагнітні уловлювачі очищувати, перевіряти магнітну індукцію і підйомну силу .	3	0,2	0,6	Суттєвий
	Х – відсутні	–	–	–	–	–	–	–	–
	Б – відсутні	–	–	–	–	–	–	–	–
	А – відсутні	–	–	–	–	–	–	–	–

1.4 Дозування ЛФ і ХВЧП	Ф – відсутні	–	–	–	–	–	–	–	–
	Х – відсутні	–	–	–	–	–	–	–	–
	Б – відсутні	–	–	–	–	–	–	–	–
	А – відсутні	–	–	–	–	–	–	–	–
1.5 Змішування ЛФ і ХВЧП	Ф – відсутні	–	–	–	–	–	–	–	–
	Х – відсутні	–	–	–	–	–	–	–	–
	Б – відсутні	–	–	–	–	–	–	–	–
	А – відсутні	–	–	–	–	–	–	–	–
1.6 Сушіння комплексу ЛФ-ХВЧП	Ф – відсутні	–	–	–	–	–	–	–	–
	Х – мийні та дезінфікувальні засоби	З обладнання	Не допускається, або дозволенні до використання згідно з програмами-передумовами.	–	Програми-передумови щодо санітарного стану поверхонь, використання дозволених МОЗ України мийних та дезінфікувальних засобів, їхнього дозування при приготування розчинів.	2	0,1	0,2	Несуттєвий
	Б – залишкова мікрофлора	При недотриманні режимів сушіння та остаточного вмісту вологи у продукті	МАФАнМ – $10 \cdot 10^3$ КУО/г; БГКП – не допускається в 0,1 г; <i>Salmonella</i> – не допускається в 10 г; Дріжджі та плісеневі гриби – 1000 КУО/г.	ТУ У «Дієтична добавка»	$t = 55-60 \text{ }^\circ\text{C}$, $\tau = 20-40 \text{ хв}$, $\omega_{\text{комплексу}} \leq 10 \%$.	3	0,2	0,6	Суттєвий
	А – відсутні	–	–	–	–	–	–	–	–
	Ф – металомангнітні домішки	Можуть залишитись від попереднього очищення	Не дозволяються	ТУ У «Дієтичні добавки»	Металомангнітні уловлювачі очищувати, перевіряти магнітну індукцію і підйомну силу .	2	0,2	0,4	Несуттєвий

	Х – мийні та дезинфікувальні засоби	З обладнання	Не допускається, або дозволенні до використання згідно з програмами-передумовами.	–	Програми-передумови щодо санітарного стану поверхонь, використання дозволених МОЗ України мийних та дезинфікувальних засобів, їхнього дозування при приготування розчинів.	2	0,1	0,2	Несуттєвий
	Б – мікрофлора робочого приміщення	При недотриманні асептичних умов фасування (клас А робочих приміщень — локальна зона для операцій фасування, закупорювання ємностей, при яких контамінація може становити високий ризик для якості продукції)	Рекомендовані межі мікробіологічної контамінації: <1 – проба повітря, КУО/м ³ ; седимінація на пластину (д=55 мм), КУО/4 год; контактні пластини (д=55 мм), КУО/пластина; відбиток 5 пальців у рукавичці, КУО/рукавичка. Максимально допустима кількість часток в 1 м ³ повітря, мкм: 0,5 мкм – 3500; 5 мкм – 0.	ТУ У «Дієтична добавка»	Очищення і стерилізація повітря готрою водяною парою τ гост.вод.парою = 30 хв. $\omega_{\text{пов}} = 40-60 \%$, $t_{\text{пов}} = 17-20 \text{ }^\circ\text{C}$.	3	0,2	0,6	Суттєвий
	А – відсутні	–	–	–	–	–	–	–	–
1.8.	Ф – відсутні	–	–	–	–	–	–	–	–
Пакування	Х – відсутні	–	–	–	–	–	–	–	–
комплексу	Б – відсутні	–	–	–	–	–	–	–	–
ЛФ-ХВЧП	А – відсутні	–	–	–	–	–	–	–	–

1.9 Зберігання комплексу ЛФ-ХВЧП	Ф – відсутні	–	–	–	–	–	–	–	–
	Х – відсутні	–	–	–	–	–	–	–	–
	Б – вторинна контамінація	Порушення герметичності упаковки, розвиток мікрофлори у разі порушення температурно- вологісних умов зберігання	КМАФАнМ, КУО/г – 10 · 103. БГКП (коліформи) в 0,1 г – не допускаються. Патогенні мікроорганізми, у тому числі Salmonella в 10 г – не допускаються. Дріжджі і плісєневі гриби, КУО/г – 1000.	ТУ У «Дієтична добавка»	t= 2-20 °С, ω≤75 %	3	0,1	0,3	Несуттєвий
	А – відсутні	–	–	–	–	–	–	–	–

КРМ.ХХ та Е.1.732-03.1.1

РОЗРОБЛЕННЯ ТЕХНОЛОГІЇ ТА ОБҐРУНТУВАННЯ КРИТЕРІЇВ ОЦІНКИ ЯКОСТІ ДІЄТИЧНОЇ ДОБАВКИ НА ОСНОВІ БІЛКІВ МОЛОКА

ВИКОНАВ:

СТУДЕНТ ГРУПИ ТМ-65 НАЙДЬОНОВ О.Ю.

КЕРІВНИКИ:

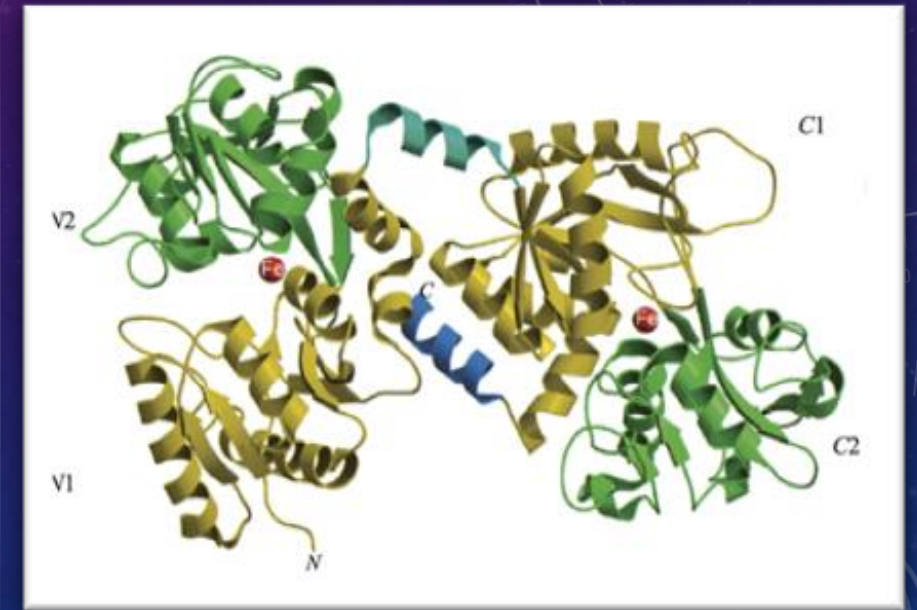
ПРОФ. ЧЕРНО Н.К.

ДОЦ. ГУРАЛЬ Л.С.

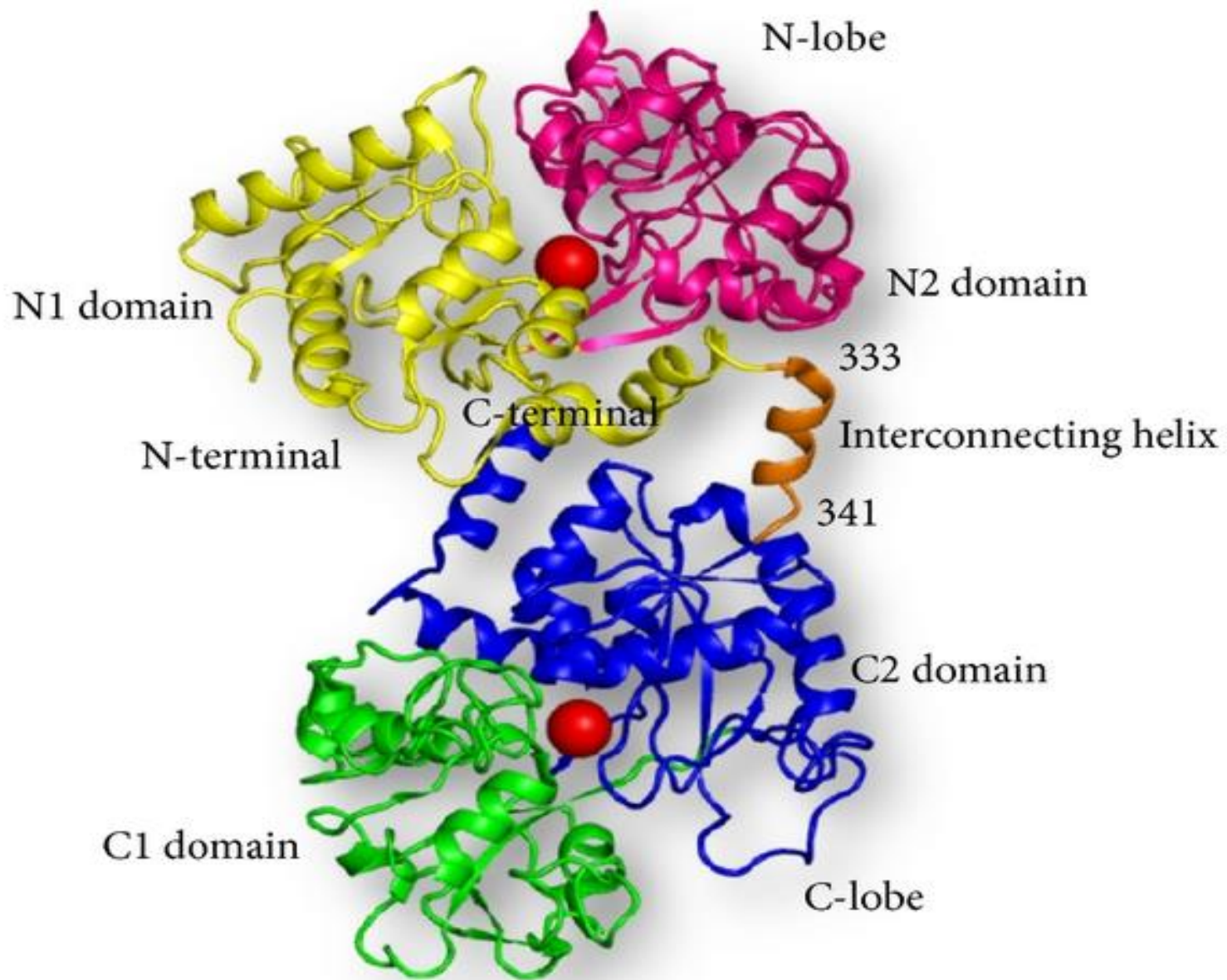
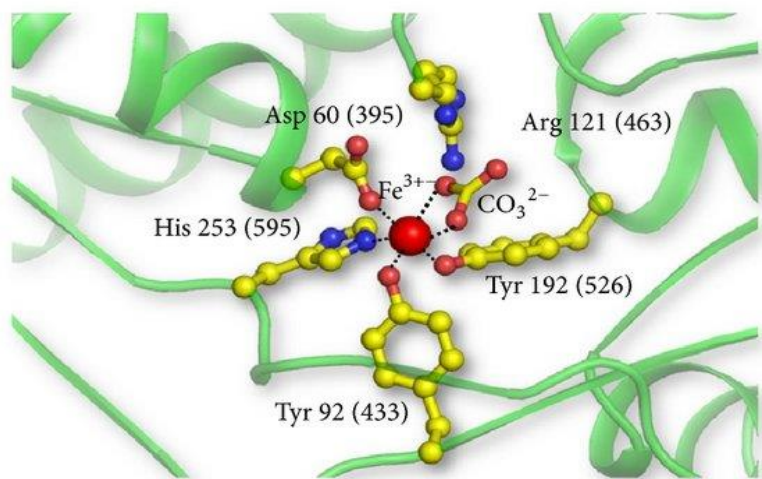
АКТУАЛЬНІСТЬ

Білкова складова молока є багатокomпонентною субстанцією, найважливішою складовою якої являється лактоферин (ЛФ). Саме на ньому зроблено акцент в даній кваліфікаційній роботі.

ЛФ грає видатну фізіологічну роль за рахунок його антибактеріальній, противірусній, протизапальній та інших активностей. Крім того ЛФ грає особливу роль в ШКТ людини, оскільки впливає на проліферацію та диференціювання епітеліальних клітин кишечника. Однак він має обмежену біодоступність, оскільки розпадається в результаті деструктивної дії травних ферментів. Саме тому основна увага була приділена проблемі його стабілізації до дії травних ферментів.



ЛАКТОФЕРИН – ЩО ЦЕ?



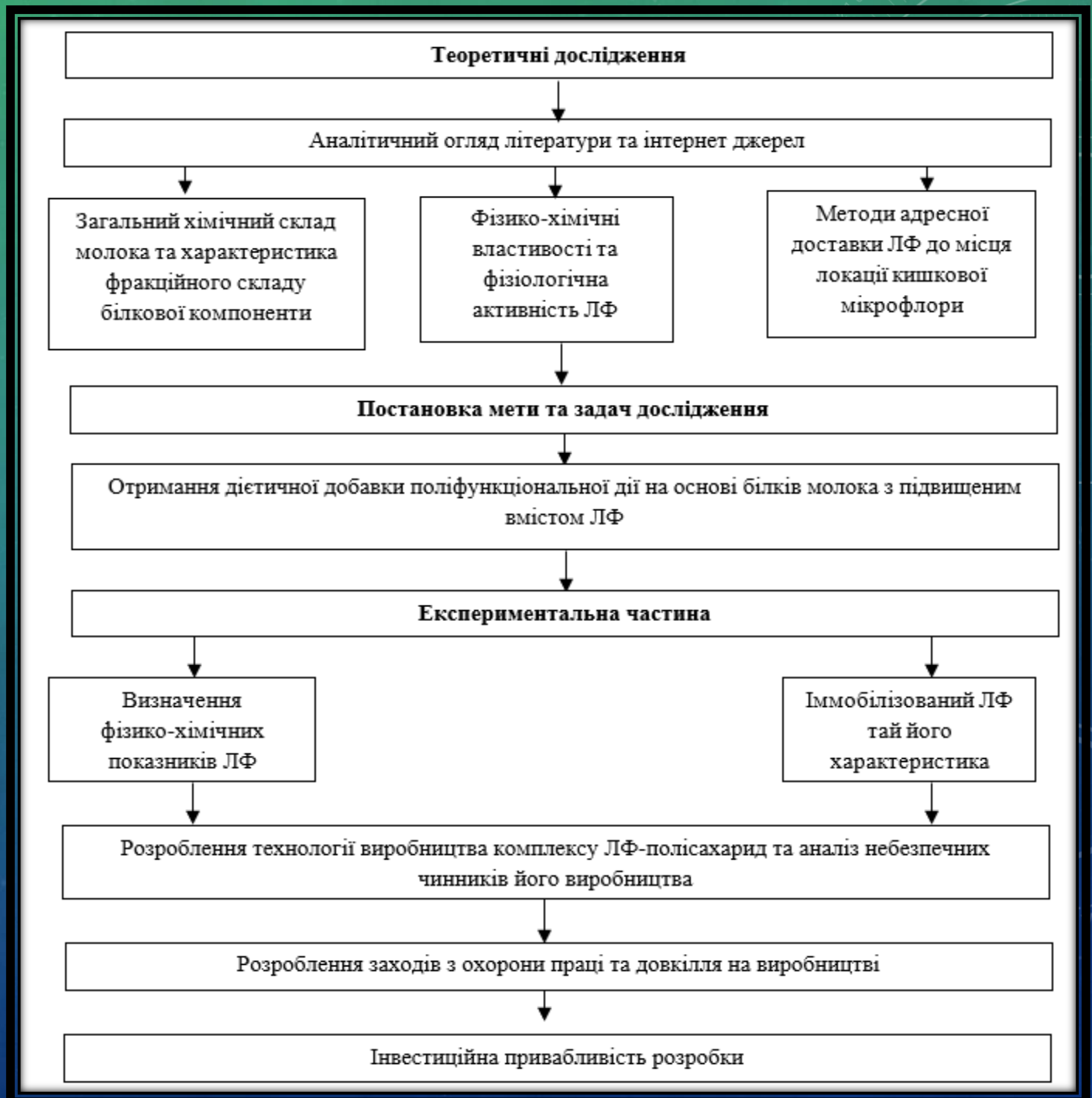
Метою даної роботи є визначення перспективи отримання білкового продукту поліфункціональної дії на основі ЛФ, стабілізованого полісахаридними матрицями.



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

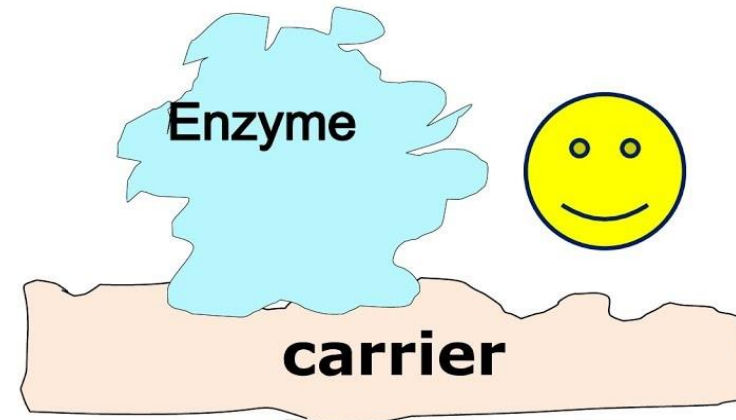
1. узагальнити дані літературних джерел щодо відомостей про харчові джерела ЛФ, особливості будови молекули глікопротеїду, фізико-хімічні та біологічні властивості, методи стабілізації та галузі використання;
2. здійснити іммобілізацію молочного білкового продукту з підвищеним вмістом ЛФ (БПЛФ) на ХВЧП та низці некрохмальних полісахаридів комерційного походження;
3. розробити технологічну схему виробництва стабілізованого ЛФ, провести експертну оцінку виробництва;
4. провести аналіз небезпечних чинників виробництва стабілізованого ЛФ та розробити план НАССР;
5. визначити шляхи організації охорони праці та навколишнього середовища при виробництві функціонального інгредієнту;
6. розрахувати техніко-економічне обґрунтування ефективності дослідження та впровадження його у виробництво.

СХЕМА ДОСЛІДЖЕННЯ



To **Quickly**
understand

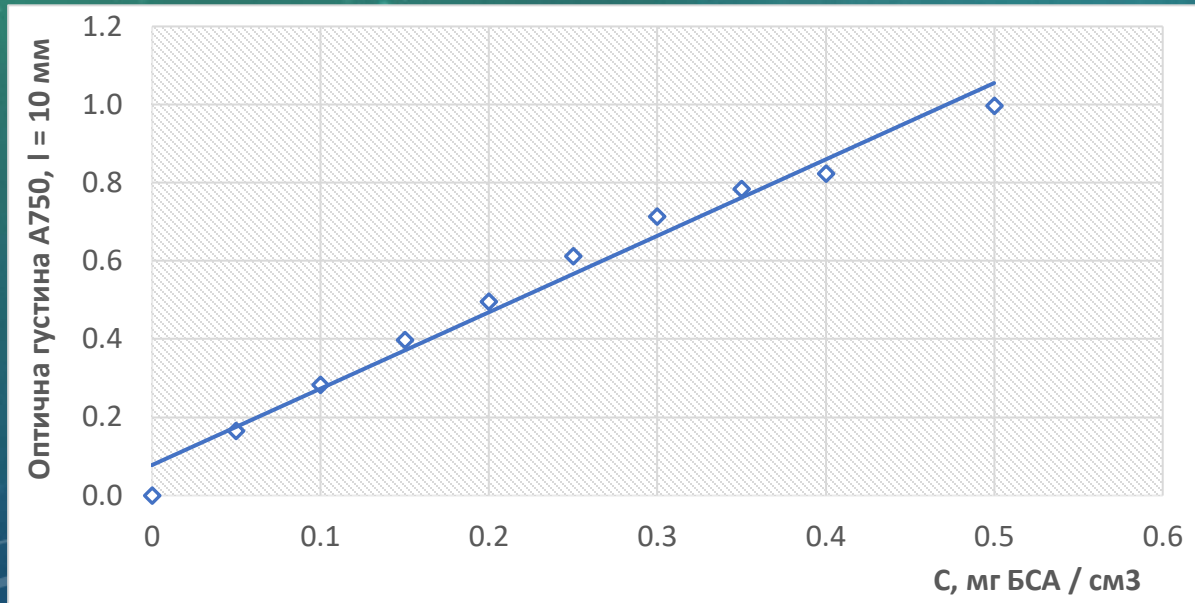
Enzyme immobilization



Комплекси отримували шляхом іммобілізації білкової компоненти на полісахаридних матрицях: харчові волокна чорнозерної пшениці та окремі полісахариди, перелік яких наведено нижче.

ОТРИМАННЯ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА КОМПЛЕКСІВ БПДФ–ХВЧП

№ зразку	Матриця	ГМ	Співвідношення ХВ : БПДФ
1	ХВЧП	12	100:1
2			50:1
3			25:1
4			12:1



Калібрувальний графік, побудований по БСА, для визначення концентрації білка

СТУПІНЬ ФЕРМЕНТОЛІЗУ ТРАВНИМИ ФЕРМЕНТАМИ ЛФ-ХВЧП

Поведінку ЛФ у складі утворених комплексів з ХВЧП досліджували *in vitro* в модельній системі пепсин-трипсин.



Було виявлено значне пригнічення протеолізу в шлунковій і кишковій фазах травлення, оскільки резистентність ЛФ до протеолізу порівняно з резистентністю до протеолізу неімобілізованого ЛФ **зросла на 97-100 %.**

ХАРАКТЕРИСТИКА СКЛАДУ КОМПЛЕКСІВ ОТРИМАНИХ ШЛЯХОМ ІММОБІЛІЗАЦІЇ ЛФ НА ПОЛІСАХАРИДНИХ МАТРИЦЯХ

Полісахариди	$m_{\text{полісах, г}}$	$V_{\text{розчинника}}$	ГМ	$V_{\text{водн. р-ну ЛФ, мл}}$	$m_{\text{лф, мг}}$
Хітозан	1,01	50	50	5	80
Пектин	1,00	30	30	5	80
Альгінат Натрію	1,00	49	49	5	80
Гуарова Камедь	1,00	59	59	5	80
Агар	1,00	49	49	5	80
Ксантан	1,01	49	49	5	80
Арабіногалактан	1,00	20	20	5	80

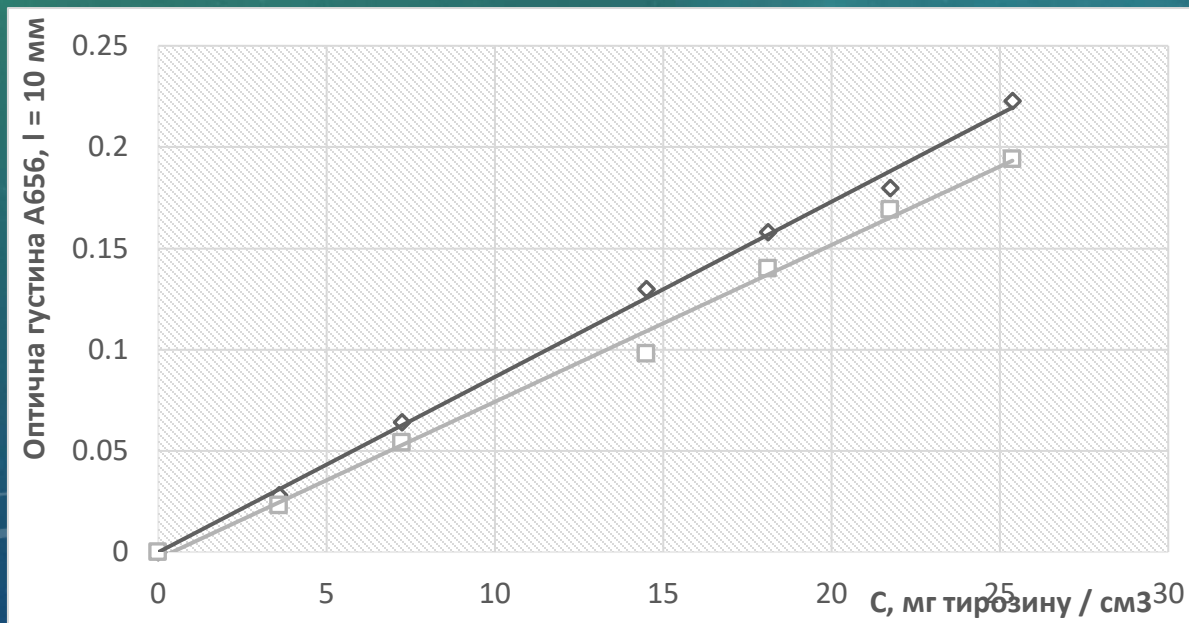
В усіх отриманих комплексах співвідношення полісахарид : ЛФ становило 12,5 : 1.



Натрій альгінат

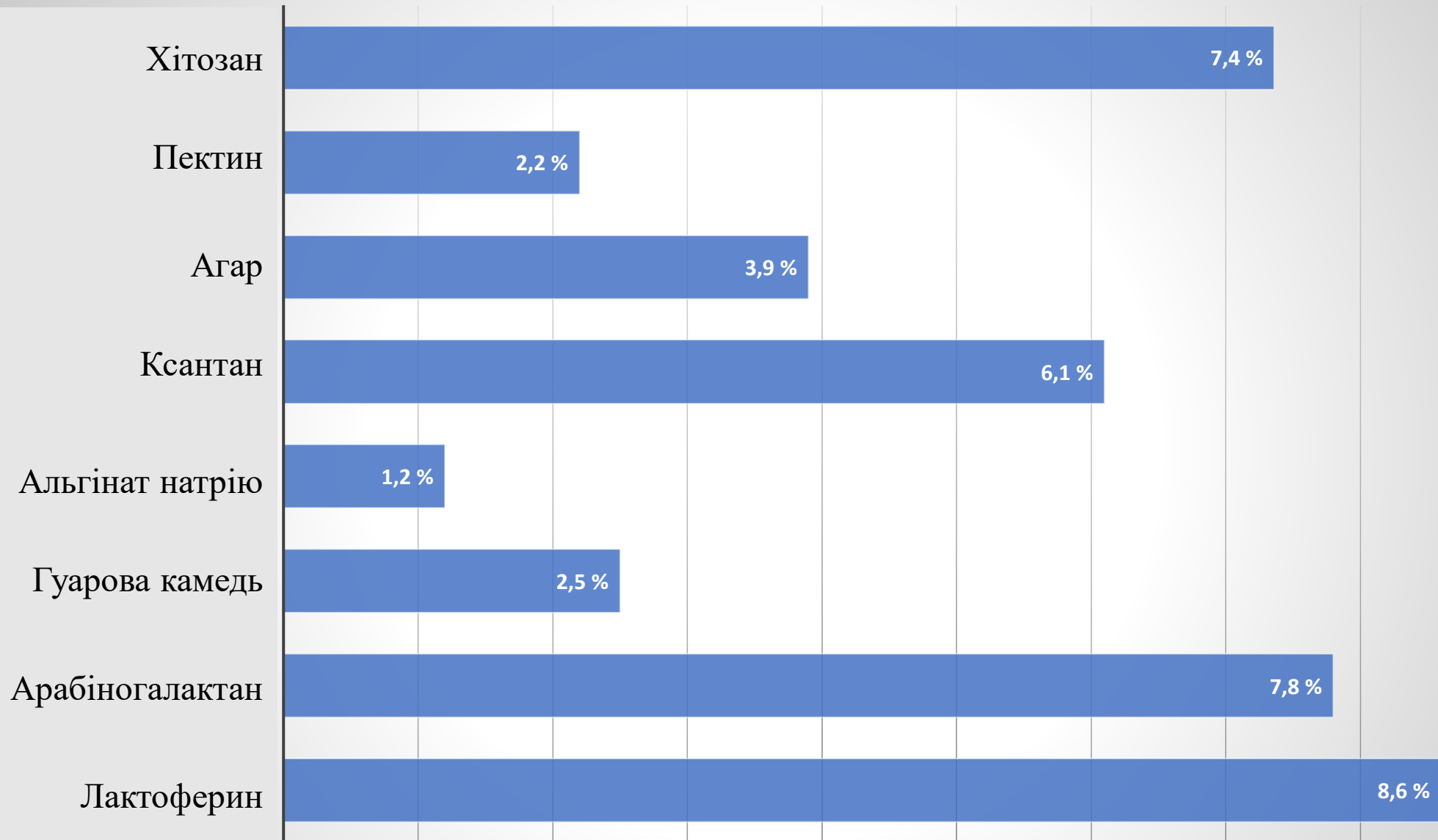


Гуарова камедь



Калібрувальний графік, побудований по тирозину, для визначення низькомолекулярних продуктів протеолізу

СТУПІНЬ ФЕРМЕНТОЛІЗУ ТРАВНИМИ ФЕРМЕНТАМИ КОМПЛЕКСУ ЛФ ІММОБІЛІЗОВАНОГО НА ПОЛІСАХАРИДНИХ МАТРИЦЯХ



Ступінь ферментолізу ЛФ у складі комплексів, %

Таким чином:

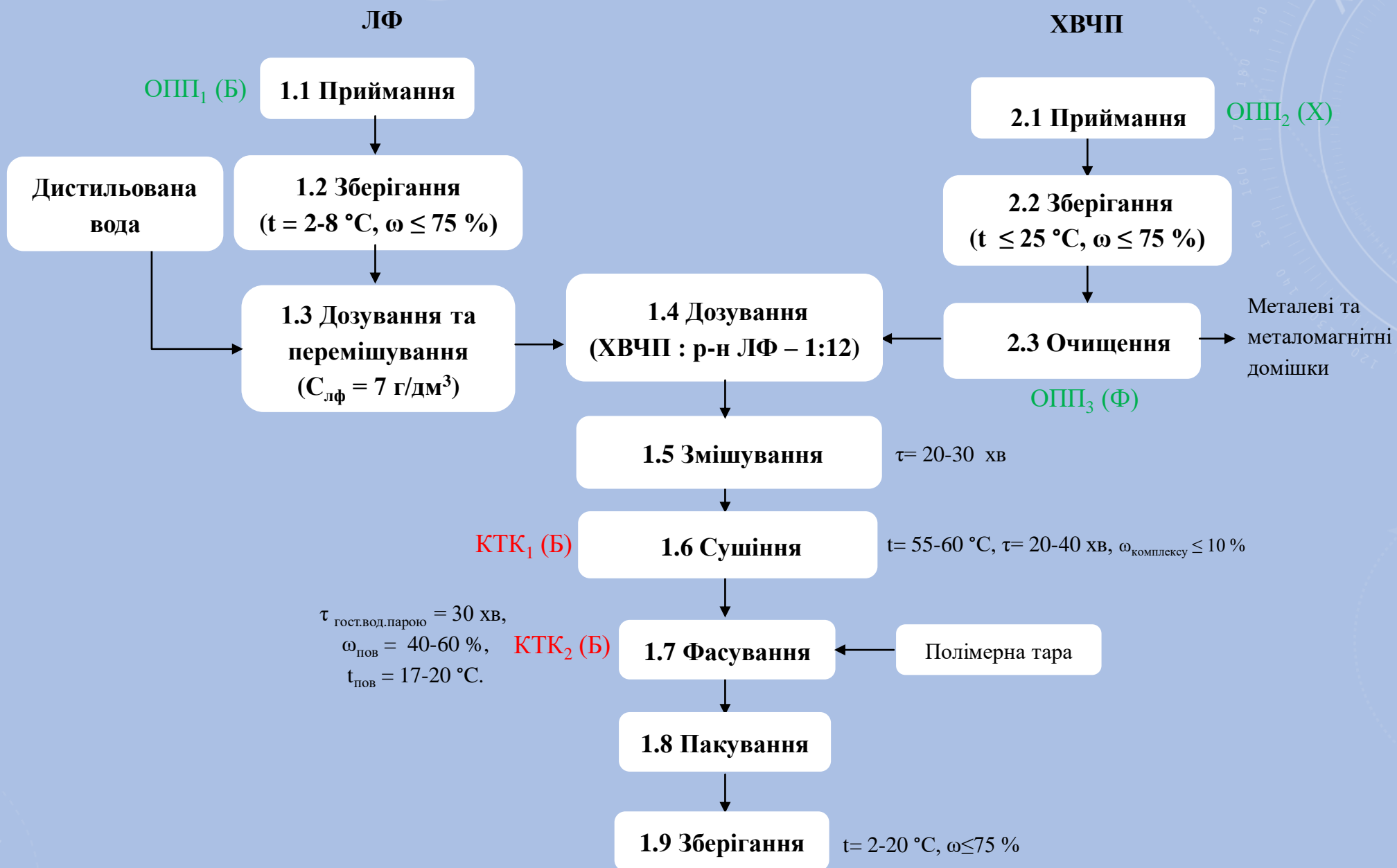
1. Розроблено спосіб іммобілізації БПЛФ шляхом комплексоутворення з препаратами ХВ та окремими некрохмальними полісахаридами.
2. Доведено, що іммобілізація БПЛФ на концентраті ХВЧП та препаратах окремих полісахаридів дозволяє підвищити стійкість ЛФ до дії травних ферментів, що сприятиме пролонгації його експозиції у шлунково-кишковому тракті людини та доставці у зону кишківника у незмінному вигляді, і забезпечить підвищення біодоступності ЛФ.

Наступним етапом роботи було:

1. розроблення технології виробництва дієтичної добавки ЛФ-ХВЧП, здійснення експертної оцінки виробництва;
2. проведення аналізу небезпечних чинників виробництва дієтичної добавки ЛФ-ХВЧП та розроблення плану НАССР;
3. визначення шляхів організації охорони праці та навколишнього середовища при виробництві дієтичної добавки ЛФ-ХВЧП;
4. техніко-економічне обґрунтування ефективності впровадження розробленої технології.



ТЕХНОЛОГІЧНА СХЕМА ВИРОБНИЦТВА ДІЄТИЧНОЇ ДОБАВКИ ЛФ-ХВЧП



ПОКАЗНИКИ ЯКОСТІ ГОТОВОЇ ПРОДУКЦІЇ

Органолептичні показники

Показник	Характеристика
Зовнішній вигляд	Без грудочок, крупнодисперсна або дрібнодисперсна суміш
Смак та аромат	Властивий харчовим волокнам з пшеничних висівок, без сторонніх запахів, не затхлий, не кислий, без ознак плісняви
Колір	Темно-коричневий, сіро-коричневий

Фізико-хімічні показники

Показник	Норма
Масова частка вологи, %, не більше ніж	10,0
Масова частка білка, %	23,0-27,0
Масова частка ЛФ, %	7,8-8,0
Масова частка вуглеводів (харчових волокон), %, не менше ніж	75,0
Масова частка сирого жиру, %, не більше ніж	5,0
Масова частка фенольних речовин, у перерахунку на галову кислоту, не менше мг/100г	120,0
Масова золи, %, не більше	7,0
Вміст сторонніх домішок	Не допускається

ПОКАЗНИКИ БЕЗПЕЧНОСТІ ТА МІКРОБІОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ ГОТОВОЇ ПРОДУКЦІЇ

Показники безпеки

Показник	Допустимі рівні
Токсичні елементи, мг/кг, не більше	
Свинець	5,0
Миш'як	3,0
Ртуть	1,0
Кадмій	1,0
Радіонукліди, Бк/кг, не більше	
Цезій-137	200
Стронцій-90	100

Мікробіологічні показники

Показник	Допустимі рівні
КМАФАнМ, КУО/г	$10 \cdot 10^3$
БГКП (коліформи) в 0,1 г	Не допускаються
патогенні мікроорганізми, у тому числі <i>Salmonella</i> в 10 г	Не допускаються
Дріжджі, КУО/г	1000
Плісневі гриби, КУО/г	1000

ПЛАН НАССР

КТК № _ /стадія процесу	Небезпечний (-і) чинник(и), яким(и) керують у КТК	Захід (-оди) керування	Критична межа	Процедура моніторингу				Протоколи	Коригування та коригувальні дії (відповідальність) протоколи
				Вимірювання або спостереження	Прилади, використ. для моніторингу	Частота	Хто виконує моніторинг/оцінює результат		
КТК 1 1.7 Сушіння комплексу ЛФ-ХВЧП	Б – залишкова і патогенна мікрофлора: МАФАНМ; БГКП (колі форми), Salmonella, плісеневі гриби.	Дотримання режимів сушіння та остаточного вмісту вологи у продукті	$t = 55-60\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\tau = 20-40\text{ хв}$ $\omega_{\text{комплексу}} \leq 10\%$	Автоматична реєстрація температури і тривалості сушіння на дисплеї Лабораторне визначення вмісту вологи у продукті	Термодатчики, датчики часу процесу сушіння, автоматична реєстрація показників Аналітичні ваги, бюкси, сушильна шафа, ексикатори	Постійний контроль температури та тривалості Кожна партія дієтичної добавки	Оператор технологічної лінії, технолог Хімік-лаборант	Журнал контролю процесу сушіння Журнал контролю вмісту вологи у дієтичних добавках	Посилений контроль роботи сушарки і параметрів сушіння. Повідомляють головного технолога Дієтичну добавку з підвищеним вмістом кологи спрямовують на досушування. Повідомляють зав. лабораторії.
КТК 2 1.7 Фасування комплексу ЛФ-ХВЧП	Б – мікробіологічна контамінація повітря зони А робочого приміщення, в якій контамінація може становити високий ризик для продукції	Забезпечення біобезпеки – асептичні умови фасування і закупорювання ємностей	Межі мікробіологічної контамінації: <1 – проба повітря, КУО/м ³ ; седиментація на пластину (d=55 мм), КУО/4 год $\tau_{\text{гост.вод.парою}} = 30\text{ хв.}$ $\omega_{\text{пов}} = 40-60\%$ $t_{\text{пов}} = 17-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.	Аналіз проби повітря на концентрацію життєздатної мікрофлори, седиментація на пластину. Тривалість обробки гострою водяною парою, вимірювання вологості і температури стерильного повітря	Еспрес-тести, контактні пластини (d=55 мм), КУО/пластина Автоматичний реєстратор тривалості обробки гострою водяною парою, гігрометр, термометр	1 раз в зміну Кожний раз при стерилізації повітря, постійно при фасуванні та закупорюванні	Хімік-лаборант Оператор робочих приміщень	Журнал контролю біобезпеки робочих приміщень Журнал контролю кліматичних умов робочих приміщень	Повторна стерилізація зони А робочого приміщення. Посилений контроль температурно-вологісних умов. Повідомляють головного технолога і зав. лабораторії.

ОПЕРАЦІЙНІ ПРОГРАМИ-ПЕРЕДУМОВИ

ОПП №_ /стадія процесу	Небезпечний (-і) чинник(и), яким(и) керують у ОПП	Захід (-оди) керування	Процедура моніторингу				Протоколи	Коригування та коригувальні дії (відповідальність) протоколи
			Вимірювання або спостереження	Прилади, використ. для моніторингу	Частота	Хто виконує моніторингу /оцінює результат		
ОПП 1 1.1. Приймання ЛФ	Б – сторонні та патогенні мікроорганізми	Гарантії постачальника, протоколи дослідження, мікробіологічни й контроль	Мікробіологічне дослідження	Експрес-тести, бакпосіви	Кожна партія	Мікробіолог	Журнал вхідного контролю сировини	У разі невідповідності партію забраковують і повертають постачальнику
ОПП 2 2.1 Приймання ХВЧП	Х – пестициди, мікотоксини, токсичні елементи, радіонукліди	Гарантії постачальника, протоколи дослідження, періодичний контроль	Токсикологічний аналіз	Експрес-тести, ВЕРХ, ГХ, атомно- абсорбційний спектрометр, радіометри або бета- спектрометри	Періодичний контроль – 1 раз/міс.	Хімік-лаборант	Журнал вхідного контролю сировини	У разі невідповідності партію забракують і повертають постачальнику
ОПП 3 2.3 Очищення ХВЧП	Ф – Металеві та металомагнітні домішки	Використання сит відповідних розмірів, їх очищення. Застосування магнітних уловлювачів, перевірка їх магнітної індукції і вантажопідіймн ості магніту.	У магнітних уловлювачах проводиться перевірка сили магніту – вантажопідіймність . При зниженні вантажопідіймно сті нижче норми магнітні дуги намагнічують.	Магніти перевіряють теслометром	Регулярна перевірка раз в 7 днів	Оператор технологічної лінії, змінний лаборант.	Журнал обліку металомагнітни х домішок	У разі невідповідності нормам за вмістом металомагнітних домішок спрямовують на повторне очищення. Очищення магнітів проводиться слюсарем і змінним лаборантом не рідше 1 разу в зміну

ІНВЕСТИЦІЙНА ПРИВАБЛИВІСТЬ

Показник	Значення
1.Обсяг реалізації продукції, тис. грн	18000
2. Інвестиції в розробку інновації, тис. грн	260,2
3. Інвестиції для впровадження інновацій у виробництво, тис. грн, в т.ч. інвестиції в основні засоби, тис. грн	2823
інвестиції в оборотні кошти , тис. грн	1023
4. Собівартість продукції, тис. грн	1800
5. Прибуток від реалізації проєкту, тис. грн	16136,9
6. Чистий прибуток від реалізації проєкту, тис. грн	1863,1
7. Рентабельність продукції, %	1527,7
8. Термін окупності інвестицій, років	11,5
9. Рентабельність інвестицій, %	2,02
	49,6

ВИСНОВКИ

- ЛФ – це функціональний глюकोпротеїд, який має позитивний вплив на організм людини завдяки наявності широкої низки фізіологічних ефектів, який потребує стабілізації. Молекула ЛФ розпадається під дією травних ферментів шлунково-кишкового тракту, тому його біодоступність досить обмежена.
- Розроблено спосіб іммобілізації БПЛФ шляхом комплексоутворення з ХВЧП та некрохмальними полісахаридами арабіногалактаном, пектином, альгінатом натрію, агаром, ксантаном, гуаровою камеддю та хітозаном. Доведено, що іммобілізація БПЛФ на концентраті ХВЧП та препаратах окремих полісахаридів дозволить підвищити стійкість ЛФ до дії травних ферментів, що сприятиме пролонгації його експозиції у шлунково-кишковому тракті людини та доставці у зону товстого кишківника у незмінному вигляді і забезпечить підвищення його біодоступності.
- Розроблено технологічну схему виробництва дієтичної добавки – стабілізованого ЛФ на ХВЧП. Обґрунтовано показники якості та безпечності дієтичної добавки ЛФ-ХВЧП.
- Розроблено план НАССР технології виробництва дієтичної добавки ЛФ-ХВЧП. До плану НАССР віднесено дві КТК на операціях сушіння дієтичної добавки та її фасування у ємності. До ОПП віднесено етап приймання сировини, а також операцію очищення ХВЧП від феродомішок.
- Визначено шляхи організації охорони праці та навколишнього середовища при виробництві дієтичних добавок.
- Проведені в роботі розрахунки свідчать про високу економічну ефективність та інвестиційну привабливість запропонованої розробки.



**Слава Україні!
Героям слава!**

**Слава нації!
Смерть ворогам!**

ДЯКУЮ ЗА УВАГУ!