

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
КІЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій
Кафедра біотехнології, шкіри та хутра

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
на тему:
«Інтенсифікація біосинтезу мікробної целюлози»

Рівень вищої освіти перший (бакалаврський)
Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія
Освітня програма Біотехнологія

Виконала: студентка групи ББТ-21
Тамара КОСИНСЬКА
Науковий керівник:
к.т.н., доц. Ірина ВОЛОШИНА
Рецензент: к.б.н., доц. Ольга ЮНГІН

Київ 2025

**КІЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ**

Факультет	<u>хімічних та біофармацевтичних технологій</u>
Кафедра	<u>біотехнології, шкіри та хутра</u>
Рівень вищої освіти	<u>перший (бакалаврський)</u>
Спеціальність	<u>162 Біотехнології та біоінженерія</u>
Освітня програма	<u>Біотехнологія</u>

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри БШХ

_____ Олена МОКРОУСОВА
 «____» _____ 2025 р.

ЗАВДАННЯ НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ СТУДЕНТУ
Косинській Тамарі Володимирівні

1. Тема кваліфікаційної роботи: Інтенсифікація біосинтезу мікробної целюлози
 Науковий керівник роботи Волошина Ірина Миколаївна, к.т.н., доц.
 затверджені наказом КНУТД від «05» 03 2025 року № 50-уч
2. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи: завдання на кваліфікаційну роботу; наукова література щодо біосинтезу бактеріальної целюлози; результати попередніх досліджень, мікробна асоціація SCOPY.
3. Зміст кваліфікаційної роботи: вступ, огляд літератури, методи дослідження, експериментальна частина, висновки, список використаних джерел, додатки.
4. Дата видачі завдання 05.03.2025 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапу кваліфікаційної роботи	Орієнтовний терміни виконання	Примітка про виконання
1	Вступ	10.03.2025	
2	Розділ 1 Огляд літератури	28.03.2025	
3	Розділ 2 Об'єкт, мета та методи дослідження	04.04.2025	
4	Розділ 3 Експериментальна частина	23.05.2025	
5	Висновки	27.05.2025	
6	Оформлення кваліфікаційної роботи (чистовий варіант)	05.06.2025	
7	Подача кваліфікаційної роботи науковому керівнику для відгуку (за 14 днів до захисту)	06.06.2025	
8	Подача кваліфікаційної роботи для рецензування (за 12 днів до захисту)		
9	Перевірка кваліфікаційної роботи на наявність ознак plagiatu (за 10 днів до захисту)		Коефіцієнт подібності ____ % Коефіцієнт цитування ____ % _____
10	Подання кваліфікаційної роботи на підпис завідувачу кафедри (за 7 днів до захисту)		

З завданням ознайомлений:

Студент _____ Тамара КОСИНСЬКА

Науковий керівник _____ Ірина ВОЛОШИНА

АНОТАЦІЯ

Косинська Т.В. Інтенсифікація біосинтезу мікробної целюлози – Рукопис.

Кваліфікаційна робота за спеціальністю 162 «Біотехнології та біоінженерія». – Київський національний університет технологій та дизайну, Київ, 2025 рік.

Кваліфікаційну роботу присвячено аналізу процесу створення технології виробництва бактеріальної целюлози за допомогою мікробної асоціації SCOPY. Досліджується вплив різних простих та складних поживних субстратів харчового виробництва на синтез бактеріальної целюлози. Отримані результати показали, що середовища з глюкози та сахарози, а також їх комбінації продемонстрували хороший вихід біоплівок, а в поєданні зі складними субстратами, такими як кукурудзяне і соєве борошно, білкові концентрати льону, коноплі та яблучний пектин, вихід біоплівок значно підвищився.

Ключові слова: SCOPY, бактеріальна целюлоза, мікробна асоціація, біоплівки, біосинтез, субстрати.

ABSTRACT

Kosynska.T V. Intensification of microbial cellulose biosynthesis – Manuscript.

Qualification work in the specialty 162 – Biotechnology and Bioengineering. – Kyiv National University of Technologies and Design, Kyiv, 2025.

The qualification work is devoted to the analysis of the process of creating a technology for the production of bacterial cellulose using the microbial association SCOPY. The influence of various simple and complex nutrient substrates of food production on the synthesis of bacterial cellulose is studied. The results obtained showed that glucose and sucrose media, as well as their combinations, demonstrated a good yield of biofilms, and in combination with complex substrates, such as corn and soy flour, protein concentrates of flax, hemp and apple pectin, the yield of biofilms increased significantly.

Keywords: *SCOPY, bacterial cellulose, microbial association, biofilms, biosynthesis, substrates.*

ЗМІСТ

ВСТУП.....	8
РОЗДІЛ 1	11
ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	11
1.1 Характеристика бактеріальної целюлози	11
1.1.1 Хімічна структура бактеріальної целюлози	11
1.1.2 Мікроорганізми-продуценти бактеріальної целюлози.....	12
1.1.3 Вибір способу культивування.....	14
1.2 Фактори, що впливають на синтез бактеріальної целюлози	16
1.3 Використання різних субстратів для отримання бактеріальної целюлози	18
1.3.1 Вплив співвідношень вуглеводу та нітрогену на синтез бактеріальної целюлози.....	18
1.3.2 Вплив додаткових речовин на синтез бактеріальної целюлози	19
1.4 Галузі використання бактеріальної целюлози	21
1.4.1 Медична галузь.....	22
1.4.2 Косметична галузь	24
1.4.3 Харчова галузь.....	25
Висновки до розділу 1.....	25
РОЗДІЛ 2	27
МЕТОДИ ТА МАТЕРІАЛИ	27
2.1 Характеристика мікробної асоціації SCOPY	27
2.2 Середовище HS (Хестрином і Шраммом)	27
2.2.1 Середовища для отримання бактеріальної целюлози	28
2.2.2 Приготування розчинів для отримання бактеріальної целюлози	28
2.3 Отримання посівного матеріалу	29
2.4 Отримання біоплівок	29
2.5 Визначення рівня значення pH	30
2.6 Способи очищення біоплівок.....	31
2.7 Способи визначення ваги біоплівок.....	31
2.8 Визначення товщини біоплівок	31

2.9 Статистичний аналіз	31
Висновки до розділу 2.	32
РОЗДІЛ 3	33
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА	33
3.1 Дослідження впливу джерела вуглецю на синтез бактеріальної целюлози	33
3.2 Дослідження впливу складних субстратів на синтез бактеріальної целюлози	33
3.3 Дослідження впливу складних субстратів з цукрами на синтез бактеріальної целюлози.....	33
3.4 Дослідження утворення бактеріальної целюлози на різних субстратах з білковими концентратами	34
3.4.1 Використання білкового концентрату льону на утворення біоплівок	Помилка! Закладку не визначено.
3.4.2 Використання білкового концентрату коноплі на утворення біоплівок.....	Помилка! Закладку не визначено.
3.4.3 Використання пектину яблучного на утворення біоплівок....	Помилка! Закладку не визначено.
Висновок до розділу 3	34
ВИСНОВКИ.....	36
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ.....	37
ДОДАТКИ.....	42

ВСТУП

З початком культу на обізнаність про екологічну стійкість, почало з'являтися все більше досліджень в пошуках нових біоматеріалів із високою ефективністю та доступною ціною. Одним з таких кандидатів була представлена бактеріальна целюлоза, яка є чистим біоматеріалом у порівнянні з іншими біополімерами, які вимагають екстракції та очищення.

Бактеріальна целюлоза є унікальним біополімером, яка налічує в собі низку переваг такі як біосумісність, не токсичність, здатність до біологічного розкладання та неканцерогеність. Синтез відбувається завдяки мікроорганізмам, основними представниками є як грам негативні бактерії роду *Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Azotobacter* і *Rhizobium*, *Komagataeibacter*, а також грампозитивні бактерії *Sarcina ventriculi*, *Lactobacillus* sp., *Bacillus* sp., *Rhodococcus* sp. Свою увагу БЦ привернула тим, що за хімічною структурою вона подібна до рослинної, але вирізняється кількома явними перевагами, що робить її хорошим кандидатом для подальших застосувань. Рослина целюлоза містить в собі такі речовини як геміцелюлозу, лігнін та пектин в той час, як бактеріальна целюлоза є набагато чистішою не містивши в собі цих речовин тому для її очищення не потрібно додаткових обробок. Завдяки своїм фізичним властивостям таких, як висока кристалічність, високі ступені полімеризації та здатності утримувати воду, БЦ є універсальним матеріалом яке знайшло широке використання у різних галузях біомедичної, харчової, текстильної, композитних матеріалів.

Актуальність теми. Бактеріальна целюлоза (БЦ) є надзвичайно унікальним біополімером з високою чистотою, міцністю, біосумісністю та широким спектром застосування у якості екологічно-чистих та біобезпечних перев'язувальних матеріалів.

Наукова новизна. Вивчення впливу різних складних субстратів харчового виробництва на синтез бактеріальної целюлози, отриманої з мікробної асоціації SCOBY.

Практичне значення. Вивчення впливу складних субстратів поживного

середовища для досягнення більшого виходу бактеріальної целюлози та можливості використання відновлювальних субстратів.

Мета дослідження. Дослідити та обґрунтувати ефективні підходи до покращення процесу біосинтезу бактеріальної целюлози шляхом дослідження складних поживних субстратів поживного середовища, з метою підвищення її виходу.

Об'єкт дослідження. Мікробна асоціація SCOBY.

Предмет дослідження. Біосинтез бактеріальної целюлози на складних субстратах які містять в собі комплекс поживних речовин.

Щоб досягти потрібних результатів, було вирішено проставити такі завдання:

1. Провести дослідження впливу різних джерел вуглецю (фруктоза, лактоза, мальтодекстрин, сахароза, глюкоза та їх комбінація) на синтез мікробної целюлози.

2. Дослідити вплив складних субстратів (соєва і кукурудзяна мука) на вихід бактеріальної целюлози.

3. Дослідити вплив білкових субстратів (білковий концентрат льону, коноплі) та яблучного пектину з різною концентрацією на вихід бактеріальної целюлози.

Методи дослідження: біотехнологічні, мікробіологічні, фізико-хімічні, статистичні.

Публікації. Результати досліджень опубліковані в збірниках матеріалів науково-практичних міжнародних та всеукраїнських конференцій.

1. **Косинська Т.В.**, Гусейнова К.Е., Федько М.М., Волошина І.М. Отримання бактеріальної целюлози // «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології»: матеріали IV Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, (м. Харків, 22 березня 2024 р.) / - Х. : НФаУ, 2024. - С. 234-236 (Додаток А), сертифікат (Додаток Б).

2. **Косинська Т.**, Петрух А., Волошина І. Вплив джерел вуглецю на біосинтез бактеріальної целюлози // «Молодь і поступ біології»: матеріали

Міжнародної наукової конференції студентів і аспірантів присвячена 90-річчю від дня народження професора Ореста Демківа, (м. Дніпро, 18–20 квітня 2024 р.) С. 146-147 (Додаток В), сертифікат (Додаток Г).

3. Петрух А.О., **Косинська Т.В.**, Фед'ко М.М., Волошина І.М. Умови біосинтезу бактеріальної целюлози // «Сучасні проблеми біології, екології та хімії»: збірник матеріалів VII Міжнародної науково-практичної конференції., (м. Запоріжжя, 25-27 квітня 2024 р.) Запоріжжя: Поліграфічний центр "CopyArt", 2024. С. 99-100 (Додаток Г), сертифікат (Додаток Д).

4. **Косинська Т.В.**, Потупа В.Ю., Шкотова Л.В., Волошина І.М. Використання бактеріальної целюлози у агропромисловому секторі // «Наукові основи адаптивного землеробства»: матеріали Міжнародної науково-практичної конференції з нагоди 100-річчя від дня народження доктора сільськогосподарських наук, професора, академіка Федора Трохимовича Моргуна, 90-річчя Агрономічного факультету Дніпровського державного аграрно-економічного університету та Міжнародного дня здоров'я рослин, (м. Дніпро, 16–17 травня 2024 р.) С. 43-44 (Додаток Е).

5. **Косинська Т.В.**, Гусейнова К.Е., Волошина І.М. Використання бактеріальної целюлози у косметичній галузі // «Стан і перспективи розвитку хімічної, харчової та парфумерно-косметичної галузей промисловості»: Матеріали VI Всеукраїнської науково-практичної конференції, (м. Хмельницький, 31 травня 2024 р.). ХНТУ. С. 81-83 (Додаток Є), сертифікат (Додаток Ж).

Структура і обсяг роботи. Основна частина кваліфікаційної науково-дослідницької роботи викладена на 52 сторінках, і включає три основні розділи та висновки. В роботі представлено список використаних джерел, що налічує 43 найменування публікацій зарубіжних дослідників. В роботі представлено п'ять додатків, що представляють виконання індивідуального плану бакалавра.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Характеристика бактеріальної целюлози

Бактеріальна целюлоза (БЦ) є унікальним відновлюваним природним матеріалом, що вирізняється своєю тривимірною структурою. Вона забезпечує чудові механічні характеристики та високу здатність до утримання вологи. БЦ являється кристалічним, чистим і біосумісним полімером. Бактеріальна целюлоза має однакову хімічну формулу як рослина ($(C_6H_{10}O_5)_n$) з β -D-глюкопіранозними одиницями, з'єднаними міжмолекулярними водневими зв'язками. Якщо порівнювати з рослиною целюлозою, бактеріальна целюлоза має низку переваг, через свою ультра тонку сітчасту структуру з високою пористістю та нанорозмірними фібрілами. Порівнюючи з рослиною целюлозою, бактеріальна має набагато більше переваг, адже не містить в собі таких компонентів як лігнін, геміцелюлоза та пектин і через це її легко очищати ніж рослинну. Крім того, бактеріальна целюлоза є екологічним матеріалом, адже є біорозкладним, біосумісним, нетоксичним та не алергенним полімером. Завдяки високій водопоглинаючій здатності гідрогелю та газопроникність, забезпечують обмін поживних речовин необхідних для виживання бактерій [7,8].

1.1.1 Хімічна структура бактеріальної целюлози

Хімічна структура бактеріальної целюлози представлена лінійними ланцюгами β -D-глюкопіранозних одиниць, з'єднаних β -1,4-гліказидними зв'язками. Біосинтез БЦ включає три основні етапи: першим етапом є полімеризація молекул глюкози з утворенням ланцюгів β -1,4-глюкану, другий етап транспорт цих ланцюгів поза межі клітини та третій етап кристалізація целюлози. Цей процес забезпечується мембрально-інтегрованими целюлозосинтазними комплексами, які кодуються оперонами bcsABCD. Ці комплекси використовують уридинифосфат-глюкозу як основний субстрат попередник целюлози у більшості організмів. Уридинифосфат-глюкоза може

синтезуватися через різноманітні метаболічні шляхи із застосуванням різних джерел вуглецю, таких як глюкоза, фруктоза, гексоза, сахароза, гліцерин, дигідроксіацетон, піруват та дикарбонові кислоти [9,10,11].

1.1.2 Мікроорганізми-продуценти бактеріальної целюлози

Бактеріальна целюлоза синтезується за допомогою мікроорганізмів, тому вибір продуцента целюлози є важливим фактором.

На сьогодні відомими продуцентами бактеріальної целюлози є різні роди грамнегативних бактерій, таких як *Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Azotobacter* і *Rhizobium*, *Komagataeibacter* (раніше відомий як *Acetobacter* і *Gluconacetobacter*) *xylinus* (*K. xylinus*), а також грампозитивні бактерії *Sarcina ventriculi*, *Lactobacillus* sp, *Bacillus* sp, *Rhodococcus* sp [14]. Серед усіх грамнегативних бактерій найбільший вихід продукту виявили у *Komagataeibacter xylinus*, яку класифікують як оцтовокислу аеробну паличкоподібну бактерію. Через високий вихід продукту *K. xylinus* використали як модельний організм для вивчення механізму синтезу БЦ. Виробництво бактеріальної целюлози за допомогою *K. xylinus* є надзвичайно ефективним через те, що одна бактерія може полімеризувати 200 000 молекул глюкози в β -1,4-глюканові ланцюги та паралельно структурувати полімерні ланцюги в нановолокна. Дослідження дали розуміння, що ферментативний безклітинний комплекс синтезує бактеріальну целюлозу за допомогою аеробного процесу, а біоплівки які утворюються у культуральному середовищі збираються на поверхні розділу повітря-рідина [12,13].

***Komagataeibacter xylinus*.** Найбільш відомим продуцентом бактеріальної целюлози являється грамнегативна аеробна оцтовокисла бактерія *K. xylinus*, ріст відбувається в середовищ збагаченим цукрами та має толерантність до 10% глюкози [15]. Цей продуцент утворює БЦ на межі повітря-рідина під час біосинтезу, від впорядкованої до випадкової мікроструктури. *K. xylinus* при культивуванні продукує целюлозу у вигляді мікрофібріл по лінії поздовжньої осі виявляються синтетичні структури клітини. Ферментація грамнегативної

аеробної оцтовокислої бактерії, відбувається при температурі 25-30 °C та при pH 3-7. Завдяки своїм фізико-хімічним властивостям, а в особливості мікрофібрилярної структури, бактеріальна целюлоза привернула багато уваги, через свою міцність на розрив, унікальну гідрофільну поверхню, наноструктурність, біосумісність та біорозкладність [16].

Мікрофібрили, що формуються на кожному синтетичному сайті, об'єднуються, утворюючи велику стрічку целюлози в поживному середовищі. Ці стрічки разом із пов'язаними клітинами переплітаються, утворюючи плаваючу плівку. Така структура дає змогу цій стабільній та строго аеробній бактерії ефективно розвиватися в умовах підвищеного вмісту кисню, який концентрується на поверхні середовища [17].

***Rhizobium* spp.** *Rhizobium* – це група паличкоподібних бульбочкових бактерій, вони являються грамнегативними, неспорулюючі, відомих тим, що встановлюють симбіотичний зв'язок з бобовими рослинами [18].

Продукування целюлози є внутрішньою властивістю штамів *Rhizobium*. Целюлозні фібрили синтезуються, як позаклітинні продукти під час росту за відсутності рослинних клітин. Утворення фібріл сильно залежить від фази росту. Під час культивування у статичних умовах утворюється поверхнева плівка [17].

Salmonella enterica. Паличкоподібна грамнегативна факультативно-аеробна бактерія, що продукує бактеріальну целюлозу. Мікроструктура волокна, була схожа на целюлозу, а бактерії розташувалися в центрі стільників. Транспозон для вироблення целюлози був іншим, через що діаметр волокна та тип гілок були повністю відмінними від *K. xylinus* [19].

***Pseudomonas* sp.** Грамнегативна, аеробна рухлива паличкоподібна бактерія, яка також в змозі продукувати бактеріальну целюлозу, але продукційна здатність мембрани були нижчою ніж у *K. xylinus* [19].

***Leifsonia* sp.** Також було виявлено, що ця грампозитивна бактерія, виділена з дощових черв'яків, може виробляти бактеріальну целюлозну мембрانу під час статичного культивування. Оптимальний pH для синтезу був кислим, а час

вироблення був тривалим, але здатність до вироблення мембрани не сильно відрізнялася. Структура волокон у целюлозній мембрани була нерівномірною за товщиною [20].

***Enterobacter* sp.** Являється факультативно анаеробний мікроорганізм, який генерує достатньо енергії й може синтезувати волокна як в аеробних умовах, так і анаеробних. Через свою подібність генів з *K. xylinus*, *Enterobacter* також продукує бактеріальну целюлозу. Утворення мембрани відбувається за типом зчеплення росту без очевидного періоду затримки, через це швидкість росту була вища та структура целюлозної мережі була щільніша [19].

***Sarcina ventriculi*.** Грампозитивна, облігатна анаеробна ґрунтована бактерія, здатна рости на цукрах у надзвичайно широкому діапазоні pH. Накопичення целюлози відбувається поза клітиною. Целюлоза не відкладається в клітинній стінці, але вона тісно пов'язана з нею та має функцію звязувати клітини у великі пакети [16].

Мікробна асоціація (SCOBY). Це симбіотична культура, відома як чайний гриб або комбуча, складається з 10 родів оцтовокислих бактерій, які фактично утворюють целюлозну гелеву плівку, і близько 25 родів дріжджів, які забезпечують комфортне співіснування мікроорганізмів, що продукують БЦ. Останнім часом все більше з'являються літератури з використанням симбіотичної культури, адже з технологічної точки зору можна використовувати для культивування не стерильні середовища. Процес бродіння чайного гриба призводить до утворення шару целюлозної плівки, що плаває на поверхні середовища для росту. Внаслідок симбіотичної співпраці мікроорганізмів, синтез бактеріальної целюлози підвищується [21,22].

1.1.3 Вибір способу культивування

Бактеріальну целюлозу можна культивувати за допомогою статичного методу, перемішуючи/струшуючи або у біореакторі. Результати біоплівок отримані цими методами відрізняються за своєю мікроструктурою, властивостями та макроскопічною морфологією. Культивування статичним

методом призводить до накопичення однорідної желатинової плівки на межі повітря-рідина, створюючи більш тонку тривимірну сітчасту структуру з високими механічними властивостями [23]. У випадку з методом перемішування/струшування бактеріальна целюлоза утворюється у формі волокнистих гранул або ниток з нижчим ступенем полімеризації, поганою механічною стійкістю та кристалічністю, ніж плівки, утворені під час статичного культивування. Проте цей метод є набагато вигідніший, адже синтез БЦ здійснюється за коротший час, також метод перемішування використовується в комерційних цілях та має низку переваг у застосуванні такі як, іммобілізацію білків та ліпаз, а також вивільнення ліків та абсорбція нанокомпозитів [5, 23, 24].

Альтернативним методом є культивування в біореакторі, через можливість використовувати як статичний, так і перемішуючий/струшуючий метод. З технологічної думки цей метод дозволяє збагачувати киснем середовище мати обертовий диск або опору для біоплівки, а також оснащення обертовим фільтром або силіконовою мембрanoю [25]. У бродильній промисловості ці біореактори типом резервуар з перемішуванням є найбільш використовуваними. У цих біореакторів суспензія бактеріальної целюлози з високою щільністю клітин утворює високов'язку рідину з обмеженою передачею кисню та більшу набуту потужність перемішування, збільшуючи споживання енергії. Другим варіантом більш альтернативним може бути ерліфтний біореактор, який є більш енергоефективним із меншою напругою зсуву, ніж реактори з мішалкою. Модифікуючи його, можна усунути проблеми з обмеженням постачання кисню під час синтезу бактеріальної целюлози. Також біореактори з обертовими дисками або крапельним шаром, можуть використовуватися у виробництві БЦ, адже за їх допомогою можна збільшити подачу кисню [5, 24, 27].

Культивування в біореакторі більш доцільніше за звичайні традиційні статичні та струшувальні методи. Пояснини можна тим, що при ферmentації статичним методом, ріст мікроорганізмів повільніший, через обмежене постачання кисню і тому вихід бактеріальної целюлози нижчий ніж при культивуванні у перемішувальних умовах, однак через високий ризик

контамінації іншими мікроорганізмами, вихід БЦ при таких умовах може бути знижений. У висновку біореактор є більш вигідним, адже вихід целюлози набагато вищий через високі об'єми передачу кисню, щільність клітин набагато вища, високоякісна целюлоза. Однак, залежно від використання, механічна властивість міцності на розрив БЦ може зменшуватися. З цієї причини вибір методу бродіння залежить від фізичних, морфологічних і механічних характеристик, необхідних для застосування БЦ [5, 23, 27].

1.2 Фактори, що впливають на синтез бактеріальної целюлози

Основними факторами синтезу БЦ, це правильний підбір компонентів середовища, температурний діапазон, а також значний вплив має pH середовища. З літературних джерел було проаналізовано, що значний вплив на синтез бактеріальної целюлози має співвідношення нітрогені та вуглецю. Традиційним середовищем для культивування БЦ є середовище Гестрін і Шрамм (HS), що містить в собі такі компоненти збагачені вуглецем як глюкоза 20 г/л, пептон 5 г/л та дріжджовий екстракт 5 г/л, як джерела азоту [7]. Також дослідження показали, що найкращий вихід бактеріальної целюлози досягається при додаванні до середовища метанолу і невеликої кількості ендоглюканази до інокулята. Сільськогосподарські відходи та промислові побічні продукти, теж можуть виступати в якості додаткових поживних джерел у синтезі бактеріальної целюлози, через нижчу собівартість та хороший показник у збільшенні виходу продукту [5].

Одним з головних факторів, що впливають на синтез БЦ є контроль pH середовищ. Оптимальний рівень pH середовища варіюється залежно від обраного продуцента. За літературними показниками найкращий вихід бактеріальної целюлози становив при pH 4-5 [26]. Підвищена кислотність середовища сприятливо впливає на активність оцтовокислих бактерій, які є одними з досліджуваних мікроорганізмів здатними утворювати бактеріальну целюлозу. Завдяки підтримці оптимального рівня pH, бактерії ефективно виробляють целюлозу, та через кислотність середовища контамінація іншими

мікроорганізмами зменшується. При синтезі БЦ потрібно контролювати рівень pH, адже вихід з оптимального діапазону призведе до зниження виходу продукції, порушення метаболізму бактерій, а в гіршому випадку до загибелі клітин та контамінації іншими бактеріями [27, 28].

Не менш важливим фактором також є температура при якій біоплівки культивуються, адже вона впливає на низку речей таких, як швидкість метаболічних реакцій та самого синтезу БЦ. Оптимальний температурний діапазон 28–30°C, але інколи зустрічається застосування 33,5°C, залежно від продуцента якого обирають. Якщо не дотримуватися температурного режиму підвищується ризик нормального виходу продукту. Тобто підвищення температури призведе до денатурації білків в середовищі, тоді як зниження температури призведе до уповільнення метаболізму клітин та низьку енергію для розвитку клітин. Контроль температури є основним фактором активного біосинтезу бактеріальної [29].

На синтез БЦ також впливає кисень за умови якщо обраний продуцент є аеробним. Кисень необхідний, адже більшість мікроорганізмів які синтезують бактеріальну целюлозу являються за своєю природою аеробами, винятком вважається угрупування культур SCOPY (асоціації бактерій і дріжджів) яким кисень не є важливою складовою. Забезпечення кисню необхідне для метаболізму клітин та стабільному культивуванню БЦ. При низькому рівні розчинення кисню відбувається перешкоджання росту мікроорганізмів, що призводить до сповільнення синтезу бактеріальної целюлози, а також зниженню якості БЦ. Швидкість перенесення O₂ залежить від в'язкості середовища, так при збільшенні в'язкості швидкість перенесення кисню зменшується. Виявили, що 10% насичення розчиненим киснем забезпечує найвищий вихід бактеріальної целюлози при культивуванні з підживленням [30]. Тому, було розроблено двостадійну систему культивування для вищого виходу БЦ. Система становила два етапи, перший який забезпечував збільшення розчиненого кисню в середовищі до досягнення логарифмічної фази кривої росту, а другий етап підтримує гіпоксичний стан на вторинній фазі кривої росту [31].

Отже, при культивуванні бактеріальної целюлози необхідну увагу потрібно приділяти всім факторам, які впливають на нормальній синтез целюлози, адже найменше відхилення може привести до значних змін у подальшому виході продукту.

1.3 Використання різних субстратів для отримання бактеріальної целюлози

Вибір субстрату є головним фактором успішного синтезу БЦ. Головними компонентами середовища являються нітроген та вуглець, це основна складова яка повинна бути присутня в поживному середовищі для отримання бактеріальної целюлози. Джерелом нітрогену може виступати пептон, гліцин, дріжджовий екстракт, різні екстракти чаю включаючи в себе (зелений, чорний чай), глутамат натрію, гідролізований казеїн, сульфат амонію, ці речовини є фундаментальними субстратами для росту мікроорганізмів. Основними джерелами вуглецю є цукри (сахароза, глюкоза, мальтодекстрин, лактоза, фруктоза). Іншими субстратами для синтезу бактеріальної целюлози є неорганічні солі, динатрійфосфат (Na_2HPO_4), солі магнію, сірка та солі калію є одними з найпоширеніших солей, що використовуються при синтезі БЦ. Часто використовуваними органічними поживними речовинами є органічні кислоти (оцтова, лимонна, яблучна та молочна), вітаміни (аскорбінова кислота) та жирні кислоти. Okрім них в літературі зустрічається етанол як додаткове джерело вуглецю для оптимізації виробництва бактеріальної целюлози та контамінації іншими мікроорганізмами [5].

1.3.1 Вплив співвідношень вуглеводу та нітрогену на синтез бактеріальної целюлози

Основним чинником для ефективного синтезу БЦ є співвідношення С/N (вуглець/нітроген). Ці речовини відіграють значну роль, адже без їх наявності вихід бактеріальної целюлози буде значно низький, в гіршому випадку формування целюлози зовсім не відбудеться. Головним вуглеводом у синтезі

виступає глюкоза, однак з літературних джерел також відомо, що використовують інші цукри такі як сахароза, лактоза, фруктоза, галактоза. БЦ використовує цукри у своїй ферментативні реакції перетворюючи їх в декстрозу полімеризуючи їх в целюлозні ланцюги [32]. Розглядаючи джерела нітрогену, то найбільш показником являється дріжджовий екстракт, в порівнянні з іншими речовинами такими як сульфат амонію, пептон, нітрат натрію, він показав набагато вищий вихід бактеріальної целюлози. Також з літературних джерел відомо, що неорганічні джерела нітрогену призводять до низького виходу БЦ [28].

Важливо контролювати показники у співвідношенні вуглецю й азоту, адже це визначає баланс поживних речовин для стабільного та ефективного синтезу бактеріальної целюлози. За енергію та формування біоплівок відповідає вуглець, в свою чергу за метаболічну активність і ріст мікроорганізмів, а також синтез ферментів, нуклеїнових кислот і білків відповідає нітроген.

Велика кількість вуглецю, призводить до того, що мікроорганізми, а особливо при низькому рівні азоту, використовують вуглець як вторинний метаболіт у ролі захисного механізму або засобу адаптації. Але при тому бактеріальна целюлоза формується та відбувається синтез полімерів позаклітинного матриксу.

Надмірна кількість нітрогену при синтезі БЦ, призводить зменшення виробництва бактеріальної целюлози, але при цьому збільшуються активність росту клітин. Тобто нітроген схиляє бактерії до збільшення метаболізму на синтезування білків, нуклеїнових кислот та інших компонентів, ти самим сприяючи на збільшення бактеріальної маси.

На синтез бактеріальної целюлози значно впливає фактор співвідношення C/N (вуглеводу/нітрогену) [28,33].

1.3.2 Вплив додаткових речовин на синтез бактеріальної целюлози

Вивченим та перевіреним середовищем для отримання БЦ є середовище HS (Хестрін-Шрамма). Компоненти цього середовища є дещо дорогими, тому це

перешкоджає промисловому виробництву. Останнім часом багато досліджень зосередилися на пошуку дешевих джерел поживних речовин потрібних для синтезу бактеріальної целюлози. Основними альтернативними джерелами є сільськогосподарські та промислові відходи, адже їхня собівартість набагато дешевша. В ході значних енергетичних, екологічних та економічних проблем висунули на перший план доступне використання різноманітних промислових відходів, таких як відходи агропромисловості, очисні споруди молочної промисловості, відходи пивоварної, відходи текстильних фабрик, відходи промисловості мікроводоростей. Серед усіх перелічувальних відходів, саме агропромисловість вважається найбільш потужною у виробництві БЦ, через багатий вміст білків, вуглеводів та мікроелементів. Наразі спостерігається, що виробництво бактеріальної целюлози з промислових відходів має однакові параметри у порівнянні зі стандартними середовищами [34].

Промислові відходи є багаті на джерела вуглецю для бактеріального синтезу целюлози. За останні кілька років прагнення досягти без відхідного виробництва значно зросло, тому багато науковців спонукають використовувати промислові відходи, як альтернативні джерела поживних речовин для культивування мікроорганізмів. Відходи сільськогосподарської, харчової та пивоварної промисловості є найчастіше використовуваними, через багатий вміст вуглецю. Якщо говорити про синтез бактеріальної целюлози, то доцільними будуть кондитерські відходи, адже їх продукти збагаченні джерелами вуглецю через великий вміст цукру та цукрозаміннику [34].

Альтернативними поживними джерелами в оптимізації виробництва бактеріальної целюлози можуть виступати відходи продуктів молочної промисловості, ананасового агробізнесу, пшенична солома, фруктові соки, гнилі фрукти, меляса, винний бульйон, всі ці речовини є низьковартісні та ефективні при синтезі БЦ. Так побічні продукти молочної на спиртової промисловості показали втричі більший вихід целюлози (5,45 г/л) ніж традиційне середовище HS (2,14 г/л). Такий самий результат був використовуючи бурякову мелясу замість глукози, як альтернативну заміні, де вихід целюлози становив (4,56 г/л),

а у стандартному середовищі HS (3,26 г/л). Ці дослідження показали, що змінна складу середовища не змінює хімічну структуру мембрани, а лише морфологію та кристалічність бактеріальної целюлози. [5].

Відходи агропромисловості продемонстрували гарні результати у виході БЦ. Так агрохімічні відходи цукрової тростини та ананаса за допомогою *Gluconacetobacter swingsii*, дали значення бактеріальної целюлози вищої якості (2,8 г/л) у порівнянні зі стандартним середовищем HS. Дослідження показало, що інші сільськогосподарські відходи, такі як кукурудзяні продукти, лушпиння кавової вишні, фініки та шкірка банана є альтернативними джерелами у виробництві бактеріальної целюлози, адже вони є потенційними джерелами вуглецю.

Відходи пивоварної та безалкогольною промисловості все більше привертають до себе увагу через великі об'єми виробництва, що призводять до великоокого виходу відходів, що стає проблемою для керівництва, що спонукає до зусиль щодо зниження вартості утилізації. Дослідження продемонструвало, що ці відходи багаті на поживні речовини, тому їх доцільно використовувати як замінники основних компонентів при виробництві БЦ.

Потенційними джерелом азоту та вуглецю являється рідка барда, яка є побічним продуктом після бактеріальної ферментації вуглеводів дріжджами. Так за допомогою *Gluconacetobacter xylinus* та використання стічних вод рідкої барди рисово-винних заводів було отримано бактеріальну целюлозу з концентрацією 6,26 г/л протягом семи днів культивування.

У літературі було виявлено дослідження, що синтез бактеріальної целюлози з використанням рідкої барди як заміна середовища HS є низьковартісними та альтернативним [34].

1.4 Галузі використання бактеріальної целюлози

Бактеріальна целюлоза за своєю молекулярною формулою схожа на рослину, але має більше переваг ніж рослинна. Це унікальним біоматеріал який не містить у своєму складі таких речовин, як лігнін, геміцелюлозу та пектину,

тому не потребує додаткових очисток. Через високу чистоту, біосумісність, механічні, морфологічні та структурні властивості, вона застосовується у різних сferах. Останні комерційні застосування БЦ були зафіксовані у медичній, харчовій, косметичній, текстильній промисловості.

Одними з найпопулярніших застосувань бактеріальної целюлози є її використання у лікуванні ран у вигляді пов'язок або пластирів, в косметологічній сфері її застосовують як гідрогелеві маски, патчі та як додаткові компоненти крему. Харчова промисловість використовує БЦ як харчову добавку, через свою біорозкладність бактеріальну целюлозу використовують у харчовій упаковці. БЦ має потенціал у багатьох галузях, але через біосумісність найбільше приділяється вивчення у сфері біомедицини. [12].

1.4.1 Медична галузь

Більшість досліджень бактеріальної целюлози зараз зосереджені в біомедичній галузі, адже вони демонструють універсальність цього матеріалу в таких застосуваннях, як загоєння ран за допомогою тканинної інженерії, створення кровоносних вен, контактних лінз, трубок і біоімплантів. З літератури відомо, що деякі компанії виробляють плівки на основі бактеріальної целюлози, які використовуються надалі як пов'язки, полегшуєть біль, лікують інфекції та прискорюють загоєння ран. Залежно від складу вони також можуть діяти як антиоксиданти та антибактеріальні агенти, сприяючи прискоренню регенерації уражених тканин [41].

Біомедицина є однією з найбільш досліджених сфер використання БЦ. Бактеріальна целюлоза є природним наноматеріалом і, порівняно з іншими синтетичними полімерами, має певні переваги, такі як біосумісність, нетоксичність, здатність до біологічного розкладання та неканцерогенна активність. В цей час основним комерційним використанням мембрани БЦ є як перев'язувальні матеріали. Молекулярна структура БЦ надає деякі внутрішні характеристики, необхідні для перев'язки ран, особливо високу водоутримувальну здатність і швидкість виділення води. Стверджується, що

пов'язки на основі бактеріальної целюлози мають здатність одночасно підтримувати вологість і поглинати ексудати з пошкодженої тканини, таким чином уникаючи інфекцій, зменшуючи місцевий біль і прискорюючи відновлення шкіри. Ці властивості можна контролювати за допомогою структурної модифікації бактеріальної целюлози за допомогою специфічних добавок, які надають інший доступний об'єм пор і, як наслідок, змінене співвідношення високої водоутримувальної здатності води і швидкості виділення води [39, 40].

БЦ також використовується в біомедичній тканинній інженерії та пересадці кісток. Такі застосування можливі завдяки складу кісток, який складається з неорганічної мінеральної фази та органічної фази. Таким чином, бактеріальна целюлоза може бути використана як матриця для отримання кристалів карбонату кальцію, які покращують біосумісність [38].

БЦ знайшла своє застосування і в серцево-судинній медицині, де за допомогою неї створювали «синтетичні вени» у тестах *in vivo*, які використовували для відновлення сонної артерії у щура.

Бактеріальну целюлозу використовують в хірургії, як підшкірні імплантати. Експеримент проводили на щурах, хіургічно виконали підшкірну імплантацію для забезпечення більшого контакту з біологічними тканинами порівняно з рановими пов'язками. Результати показали, що структура БЦ позитивно впливає на інвазію клітин і поведінку імплантату з часом. Макроскопічне дослідження показало, що імплантати БЦ зберегли свою форму, але в гістологічному аналізі були очевидні внутрішні тріщини, вистелені мігруючими стовбуровими клітинами. Дослідження виявили відсутність клінічних ознак запалення в місцях розрізу. Клітинна реакція прогресивно прогресувала до хронізації зі зменшенням запальних клітин навколо імплантатів і переважанням макрофагів над нейтрофілами. Через три місяці на імплантатах були виявлені переважно макрофаги, фібробласти та ендотеліальні клітини. Усі тварини, яким імплантували целюлозні нановолокна, вижили та розвивалися протягом досліджуваного періоду. Як і очікувалося, імплантати бактеріальної целюлози в

цьому експерименті не викликали незвичайної реакції систем організму [39].

Останнім часом зростає використання різноманітних пробіотиків, здатних покращити мікробіоту кишечника та покращити травлення. Однак їх корисність істотно обмежена коротким терміном зберігання і нестабільністю. Одним із можливих розв'язання цієї проблеми є інкапсуляція пробіотиків біосумісними та антибактеріальними матеріалами, здатними підвищити стабільність пробіотиків протягом тривалого періоду, підвищити їх стійкість до несприятливих умов виробництва та захистити їх від кислотних умов травної системи людини. Завдяки своїм унікальним фізико-хімічним властивостям, особливо високій кристалічності, біосумісності та нетоксичності, БЦ дуже підходить для інкапсуляції пробіотиків [32,36].

1.4.2 Косметична галузь

Через велике використання в косметиці сировини з токсичними властивостями, а також речовин отриманих з нафтопродуктів, спостерігається зростання забруднення навколишнього середовища. Речовини які використовуються в косметиці безпечно для споживання, але шкідливі для екології. Тому вчені шукають більш безпечно засоби, які не принесуть шкоди.

У деяких косметичних засобах як сировину використовують речовини нафтового походження, що призводить до біоакумуляції та біомагніфікації у водних видів, спричиняючи значний дисбаланс у їхньому середовищі. Тривала стійкість органічних забруднювачів також є причиною таких захворювань, як алергія, ендокринні та мікробіотичні розлади, а також рак. Ці речовини впливають на гормональну систему, викликаючи токсичність в організмі, спричиняючи дисбаланс у здоровій людини та навколишньому середовищі.

Як косметичний засіб, БЦ є особливо перспективним для кількох дермофармакологічних застосувань завдяки своїм біологічним властивостям, крім того, може замінити синтетичні, нафтогазові та токсичні екологічні косметичні інгредієнти. Бактеріальна целюлоза може бути потенційним замінником синтетичних полімерів в косметології. Також БЦ може застосовуватися у

системах для доставки активних речовин до шкіри, завдяки високій адгезії та водопоглиненню. Проаналізувавши дослідження було виявлено, що вітамін В12 був використаний для включення до мембрани бактеріальної целюлози, і була перевірена його властивість розподілу. Результати показали, що відбувалося вивільнення вітаміну В12, а тести *in vitro* не показали цитотоксичності, що свідчить про те, що цей тип продукту на основі БЦ є придатним та безпечним для догляду за шкірою [35].

1.4.3 Харчова галузь

Бактеріальна целюлоза знайшла своє застосування і в харчовій промисловості, де вона використовується в якості харчових та функціональних добавках. Існує багато продукції, які містять в собі тверді компоненти, що потребують суспендування. Найуживаніші загусники та поверхнево-активні речовини є ксантанова камедь, пектин, соєвий полісахарид, ці речовини використовуються для суспендування твердих частинок. Однак їхнім значними мінусами є низька стабільність сусpenзії, проблеми при розділені фази, прозорість основного продукту, висока в'язкість. Тому потрібно знайти новий сусpenзійний агент, який буде мати набагато кращі характеристики. Бактеріальна целюлоза при умовах культивування з перемішуванням утворює целюлозу в гранулах яка має схожі характеристики, що і загусники, однак з кращою функцією суспендування твердих частинок [12].

Висновки до розділу 1.

У даному розділі було проведено аналіз наукової літератури, де описано поняття, що собою являє бактеріальна целюлоза перспективи її використання у різних галузях. Проаналізовані мікроорганізми продуcentи БЦ, середовища та оптимальні умови культивування. Також одним з ключових елементів є використання поживних джерел у середовищі, так з літературних даних відомо, що одним з аспектів у середовищі є спiввiдношення мiж джерелами вуглецю та азоту для забезпечення нормального синтезу БЦ. З усiх цiх даних можна зрозумiти, що бактерiальна целюлоза є унiкальним бiоматерiалом, через низку

переваг таких як біосумісність, високу міцність і механічну стійкість що робить її чудовим кандидатом у медичній галузі.

РОЗДІЛ 2

МЕТОДИ ТА МАТЕРІАЛИ

2.1 Характеристика мікробної асоціації SCOBY

Симбіотична спільнота бактерій і дріжджів, відома як SCOBY, представляє собою комплекс симбіотичний взаємодій мікроорганізмів, що включає оцтовокислі бактерії (AAB) представниками яких є *K. xylinus*, *K. kombuchae*, *K. saccharivorans*, *A. aceti*, *A. pastorianus*, *A. nitrogenifigens*, *A. tropicalis*, *G. oxydans*, *K. rhaeticus*, *K. intermedius*, *K. europaeus*, *G. potus*; *Gluconacetobacter sacchari*, *Acetobacter musti*, *A. pasteurianu*. До складу спільноти входять осмофільні дріжджі, серед яких, *B. bruxellensis*, *B. anomalus*, *Z. bailii*, *Z. kombuchaensis bailii*, *H. valbyensis*, *H. vinee*, *T. delbrueckii*, *S. cerevisiae*, *A. adeninivorans*. Крім того було також зафіксовано наявність молочнокислих бактерій (LAB) серед яких є *L. brevis*, *L. plantarum*, *L. kefiranofaciens*, *L. nagelli*, *L. satsumensis*, *Lactococcus spp.*, *Leuconostoc spp.* *Lacticaseibacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus mali*, *Pediococcus pentosaceus*, *P. acidilactici*, *Bifidobacterium*. Оскільки у процесі бродіння чайного гриба беруть участь три групи мікроорганізмів, які мають різний кількісний та якісний склад і продукують різноманітні метаболіти, а також враховуючи, що значна частина клітин зазнає лізису через складну послідовність змін видів або через фізико-хімічні зміни середовища, чайний гриб може розглядатися як резервуар потенційно пробіотичних штамів [43].

2.2 Середовище HS (Хестрином і Шраммом)

Найбільш широко використовуваним середовищем для отримання посівного матеріалу мікробної асоціації SCOBY є середовище HS (Хестрином і Шраммом). Склад середовища: глюкоза (20 г/л), пептону (5 г/л), дріжджового екстракту (5 г/л), динатрій фосфат (2,7 г/л), моногідрат лимонної кислоти (1,5 г/л) та вода [7].

Компоненти зазначені вище зважувались у відповідній кількості та заливались водою. Всі компоненти перемішуються в колбі до повного

розчинення та переходятя на стадію стерилізації за температури 121°C упродовж 20 хв. Перед використанням середовище потрібно охолодити [7].

2.2.1 Середовища для отримання бактеріальної целюлози

Для вирощування бактеріальної целюлози за допомогою мікробної асоціації SCOVY використовували середовище на основі чорного чаю 5 г/л з додавання компонентів для оптимального виходу БЦ.

У середовище на основі 5 г/л чорного чаю вносили такі компоненти: сахароза (20 г/л), глюкоза (40 г/л), білковий концентрат льону (0,1%), білковий концентрат коноплі (0,1%), пектин яблуневий (0,1%), екстракт кукурудзяного борошна (0,5%, 1%), екстракт соєвого борошна (0,5%, 1%) та дріжджовий автолізат (5 %). Також використовувалась концентрована оцтова кислота, як допоміжний компонент для доведення рівня pH 4. Для порівняння результатів, використовували співвідношення між цукрами та білковими концентратами льону, коноплі, гарбуза й яблучного пектину, екстрактів кукурудзяної і соєвої муки, дріжджовий автолізат присутній в усіх колбах. В сухому вигляді використовувалися компоненти такі як глюкоза і сахароза, всі інші були приготовані у вигляді розчинів. Всі компоненти поміщали в колби, де надалі додавали розчин основі чорного чаю.

2.2.2 Приготування розчинів для отримання бактеріальної целюлози

Щоб синтезувати бактеріальну целюлозу за допомогою мікробної асоціації, потрібно віднайти компоненти, які будуть збагаченні всіма потрібними поживними речовинами. Тому було обрано як джерело нітрогену, рослинні концентрати: льону, коноплі та яблучний пектин, соєве та кукурудзянє борошно, дріжджовий автолізат. Представниками вуглеводів є цукри: сахароза, глюкоза. Всі представлені компоненти окрім цукрів потрібно приготувати в розчині для одержання потрібної концентрації.

Готовали 1% розчини льону, коноплі, пектину яблучного. Розчини кип'ятили 30 хв, фільтрували від осаду та центрифугували при 4000 об/хв

впродовж 10 хв для повного осадження залишків осаду, які не профільтрувалися. Для приготування середовища брали потрібний відсоток від приготованого розчину.

Кукурудзяне та соєве борошно готували у двох концентраціях 0,5% і 1%. Розчин готували на основі чаю, тобто сухі речовини додавали в приготований чай та кип'ятили впродовж 30 хв, після чого готові розчини центрифугували при 4000 об/хв, 20 хв для осадження грубих часток. Готовий концентрат був основою для субстрату.

Дріжджовий автолізат готували зі спресованих дріжджів у 50% концентрації. Потрібну кількість дріжджів зважували та заливали водою і кип'ятили 40 хв. З розчину відбирали потрібну концентрацію.

2.3 Отримання посівного матеріалу

Для отримання посівного матеріалу використовували накопичувальну культуру SCOBY, яка вміщує в себе спільноту мікроорганізмів таких як дріжджі та оцтовокислі бактерії. До приготованого поживного середовища HS додавали 10% накопичуваної культури SCOBY. Готову колбу поміщали в термостат, температура якого становила 30°C на термін культивування 48 год. За цей період часу біомаса починає накопичуватися, яка надалі використовується для отримання бактеріальних плівок. Після завершення культивування колбу дістають з термостата, через те що нарощення біомаси відбувалося статичним методом на поверхні колби на межі рідина-повітря утворилася біоплівка, а клітини осіли на дно колби. Плівку дістають з середовища для того, щоб вона не заважала в подальшому, осаджені клітини дістають та переносять в завчасно приготоване середовище HS для подальшого культивування.

2.4 Отримання біоплівок

Отримання бактеріальних плівок проводилося в умовно-стерильних умовах. Поживні середовища які зазначені в розд. 2.2.1 потрібно приготувати. У колби які піддали стерилізації для уникнення контамінації при подальшому

культивуванні, поживного середовища вносили по 150 мл у якому містилися усі необхідні компоненти, за необхідністю доводили pH до позначки 4 за допомогою концентрованої оцтової кислоти. Заздалегідь підготовлений посівний матеріал у співвідношенні 10% від загального об'єму, вносять у поживне середовища. Готові колби поміщали в термостат при температурі 30°C в статичних умовах для утворення бактеріальної плівки. Культивування відбувалося продовж 7-ми днів після чого на синтезовані плівки знімалися та відправлялись на подальші дослідження, а колби повторно ставили на наступне нарощення біомаси з попереднім контролем pH.

2.5 Визначення рівня значення pH

Кислотність середовища можна виміряти двома способами, першим за допомогою лакмусового паперу, а другий за допомогою приладу pH-метру для більш точного визначення рівня кислотності.

Вимірювання pH за допомогою лакмусового паперу відбувається внаслідок властивостей лакмусу як природного барвника, який змінює свій колір залежно від рівня pH середовища. Лакмус є сумішшю органічних сполук, виділених із деяких лишайників, і він реагує на концентрацію іонів водню (H^+) у розчині.

Для більш точного визначення кислотності середовища використовують прибор pH-метр визначає кислотність середовища, принцип дії заснований на електрохімічному методі вимірювання різниці потенціалів між електродом. При зануренні в розчин, мембрana взаємодіє з іонами H^+ , створюючи електричний потенціал, що залежить від концентрації цих іонів.

Вимірювання pH-середовища є головним аспектом при культивуванні мікробної целюлози. Корегувати pH можна за допомогою кислот (льодяна оцтова кислота) для підкислення середовища, або гідроксид натрію (NaOH) у разі якщо pH потрібно підвищити. Оптимальний рівень кислотності для SCOBY становить 3-5, тому контроль pH середовища є важливим для успішного формування біоплівок.

2.6 Способи очищення біоплівок

Основні методи очищення біоплівок це за допомогою 5% розчин NaOH, гіпохлориду натрію, пероксиду водню. Біоплівки поміщають в 5% розчин гідроксиду натрію та кип'ятять продовж 10 хв, після чого очищенні плівки ретельно промивають водою поки pH промивної води не буде на рівні 6-7. Простішим методом є очищення за допомогою пероксиду водню. Плівки потрібно залити розчином та залишити на 20 хв, після чого промити водою і перевірити pH.

Очищення біоплівок є необхідним процесом для видалення бактеріальних клітин та компонентів середовища, які присутні в плівці.

2.7 Способи визначення ваги біоплівок

Основним способом визначення ваги біоплівок є ваговий метод. Отримані плівки перевіряли у два етапи. На першому етапі отримані мокрі біоплівки відділяли від середовища та клали та фільтрувальний папір для видалення зайвої вологи, після чого дізнавалися їх зважували на електронних вагах. На другому етапі плівки очищують (розд. 2.6) помістивши в ємність з цим розчином на 15 хв, після повторюють процедуру з видалення вологи та зважують на вагах дізнаючись масу очищених плівок.

2.8 Визначення товщини біоплівок

Для визначення товщини біоплівок, використовують прилад індикаторний механічний товщиномір ТР 0-20 мм. Готові очищенні біоплівки затискають та спостерігають за стрілкою на приладі до її повного зупинення фіксуючи результат. Для точного отримання даних товщину перевіряють 3 рази в різних точках біоплівки, визначаючи середнє значення.

2.9 Статистичний аналіз

Дані проаналізовано статично за допомогою програмного забезпечення Microsoft Office Excel 2016.

Висновки до розділу 2.

У даному розділі було проведено всебічний аналіз симбіотичної мікробної асоціації (SCOBY), умов культивування та методів отримання бактеріальної целюлози. Було встановлено, що SCOBY є складною спільнотою оцтовокислих бактерій, осмофільних дріжджів і молочнокислих бактерій, які взаємодіють між собою та утворюють біоплівку.

Описано отримання посівного матеріалу за допомогою поживного середовища HS для активного росту SCOBY. Також проведено аналіз необхідних умов для стабільного утворення біоплівок, а конкретніше температурний режим, pH-середовища. Проаналізовано способи очищення біоплівок для видалення бактеріальних клітин, та контроль маси й товщини біоплівок.

РОЗДІЛ 3

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

3.1 Дослідження впливу джерела вуглецю на синтез бактеріальної целюлози

З літературних джерел було відомо, що вуглець відіграє значну роль у синтезі БЦ, тому проаналізувавши це було обрано дослідити різні вуглецеві субстрати для отримання бактеріальної целюлози. Початковим субстратом виступає чорний чай у концентрації 5 г/л, з додатковими джерелами вуглецю. Причиною основним субстратом обирати чай було те, що його вміст налічує в собі багато поживних джерел таких як мікроелементів, антиоксидантів та поліфенолів, ці джерела є важливими для росту різних мікроорганізмів, а також є основним джерелом описаним у літературі [42].

3.2 Дослідження впливу складних субстратів на синтез бактеріальної целюлози

Не менш важливим джерелом для життя мікроорганізмів SCOPY є нітроген, який в свою чергу відповідає за метаболічну активність. У літературі найпоширенішим використовуваним джерелом нітрогену є дріжджовий екстракт, пептон, а також продукти та відходи харчової промисловості.

В даному дослідженні було обрано складні субстрати, які містять джерело карбону та нітрогену (крохмаль, амінокислоти, вітаміни, білки, жири), адже ці компоненти є відновлюваними та дешевими, тому їх використання є доцільнішим. Культивування проводилося без додаткового внесення моно та дисахаридів у якості джерела вуглецю.

3.3 Дослідження впливу складних субстратів з цукрами на синтез бактеріальної целюлози

Попереднє дослідження дало нам зрозуміти, що використання складних субстратів в якості основного субстрату без додаткового внесення моно- та дисахаридів в якості джерела вуглецю, призвело до низького виходу продукту.

Тому в даному дослідженні (табл. 3.3), було прийнято рішення використовувати соєве та кукурудзяне борошно в сумісності з вуглецем. Встановлено, що найкращий вихід БЦ був при використанні сахарози (20 г/л) і глюкози (40 г/л) та їхньої комбінації.

3.4 Дослідження утворення бактеріальної целюлози на різних субстратах з білковими концентратами

Проаналізувавши попередні дослідження було виявлено, що доцільніше використовувати співвідношення джерел нітрогену та вуглецю, адже баланс цих речовин призводить до ефективного та більш стабільного виходу бактеріальної целюлози. В табл. 3.3. було проаналізовано як основне джерело нітрогену соєве та кукурудзяне борошно (20-40 г/л) з комбінацією глюкози та сахарози (20-40 г/л), як джерело вуглецю. У результаті вихід БЦ був мінімальним, через це було прийнято рішення провести дослідження на інших складних субстратах та в деяких колбах збільшити концентрацію цукрів.

Джерелом нітрогену було обрано декілька субстратів таких як білковий концентрат льону, коноплі та пектин яблучний, концентрація яких становила (0,1, 0,2 та 0,3 г/л).

Висновок до розділу 3

У даному розділі описані результати впливу простих та складних субстратів та їх комбінацій, як джерела для синтезу бактеріальної целюлози за допомогою мікробної асоціації SCOBY. Використання альтернативних складних субстратів (кукурудзяне та соєве борошно, білкові концентрати льону, коноплі та яблучного пектину), які збагачені нітрогеном та іншими додатковими речовинами. З отриманих результатів видно, що оптимальним простим субстратом який містить в собі джерело вуглецю являється сахароза і глюкоза в концентрації (40-80 г/л) вихід БЦ становив 94-160,6 г/л та їх комбінація (94,6 г/л). Використання

простих субстратів (соєвого та кукурудзяного борошна) без додаткових джерел показали низькі результати, лише соєве борошно у концентрації (20 та 40 г/л) дало вищі показники 22 та 26,6 г/л, тому було прийняте рішення поєднати ці субстрати з цукрами. В результаті найкращі показники були виявлені при використанні соєвого борошна (20 г/л) в поєднанні з сахарозою і глюкозою (20-40 г/л) маса біоплівок становила 48,6 та 42 г/л. Також дані показали, що використання цих джерел окремо, призводить до меншої маси біоплівок, а при їх комбінуванні результати в рази покращилися. Тому співвідношення між джерелами є основним аспектом при синтезі БЦ.

У випадку з білковими субстратами найкращі показники були виявлені при використанні білкових концентратів при низьких концентраціях (0,1%) з додатковим джерелом у вигляді глюкози (80 г/л). Використовуючи білковий концентрат льону вага плівок становила 144 г/л з глюкозою (80 г/л). БК коноплі продемонстрував вихід біоплівок 179,3 г/л. Пектин яблучний продемонстрував результати 142,6 г/л, а при збільшенні концентрації (0,3%) маса становила понад 164 г/л.

ВИСНОВКИ

1. У процесі дослідження було вивчено вплив різних простих субстратів які містять і собі джерело вуглецю таких як сахароза, глюкоза, лактоза, фруктоза, мальтодекстрин на синтез БЦ. З отриманих результатів можна зрозуміти, що найвищий вихід БЦ на простих субстратах спостерігався при використанні сахарози й глюкози в концентрації (40-80 г/л) вихід БЦ становив 94-160,6 г/л та їх комбінація (94,6 г/л).

2. Використання простих субстратів (соєвого та кукурудзяного борошна) без додаткових джерел показали низькі результати, лише соєве борошно у концентрації (20 та 40 г/л) дало вищі показники 22 та 26,6 г/л, тому було прийняте рішення поєднати ці субстрати з цукрами.

3. Складні субстрати в поєданні з цукрами продемонстрували найбільший вихід бактеріальної целюлози при використанні соєвого борошна (20 г/л) в поєданні з сахарозою і глюкозою (20-40 г/л) маса біоплівок становила 48,6 та 42 г/л.

4. Білкові концентрати продемонстрували найкращі результати при використанні концентрації 0,1% з додатковим джерелом у вигляді глюкози (80 г/л), так вага плівок при БК льону становила 144 г/л з глюкозою.

5. Білковий концентрат коноплі у концентрації 0,1% з глюкозою 80 г/л, показав високий вихід бактеріальної целюлози маса якої становила 179,3 г/л.

6. У випадку з яблучним пектином хороши результати були виявлені при концентрації 0,1% так і при 0,3%, вихід становив 142,6 та 164 г/л з використанням глюкози.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Selvaraj S, Gurumurthy K. An overview of probiotic health booster-kombucha tea. *Chinese Herbal Medicines.* 2022. 16;15(1):27-32. URL: <https://doi.org/10.1016/j.chmed.2022.06.010>.
2. Effect of Brown Algae and Lichen Extracts on the SCOBY Microbiome and Kombucha Properties / D. A. Golovkina et al. *Foods.* 2022. Vol. 12, no. 1. P. 47. URL: <https://doi.org/10.3390/foods12010047>
3. Harrison K, Curtin C. Microbial Composition of SCOBY Starter Cultures Used by Commercial Kombucha Brewers in North America. *Microorganisms.* 2021. Vol. 9, no. 5. P. 1060. URL: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9051060>
4. Antolak H, Piechota D, Kucharska A. Kombucha Tea-A Double Power of Bioactive Compounds from Tea and Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts (SCOBY). *Antioxidants.* 2021 Vol. 10, no. 10. P. 1541. URL: <https://doi.org/10.3390/antiox10101541>
5. Bacterial cellulose: From production optimization to new applications / I. d. A. A. Fernandes et al. *International Journal of Biological Macromolecules.* 2020. Vol. 164. P. 2598–2611. URL: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.255>
6. Production of Bacterial Cellulose by Gluconacetobacter hansenii Using Corn Steep Liquor As Nutrient Sources / A. F. S. Costa et al. *Frontiers in Microbiology.* 2017. Vol. 8. URL: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02027>
7. Evaluation of Different Methods for Cultivating Gluconacetobacter hansenii for Bacterial Cellulose and Montmorillonite Biocomposite Production: Wound-Dressing Applications / K. V. S. Hodel et al. *Polymers.* 2020. Vol. 12, no. 2. P. 267. URL: <https://doi.org/10.3390/polym12020267>
8. Abdel-Fattah Y. R. Bioprocess Development for Production of Alkaline Protease by *Bacillus pseudofirmus Mn6* Through Statistical Experimental Designs. *Journal of Microbiology and Biotechnology.* 2009. Vol. 19, no. 4. P. 378–386. URL: <https://doi.org/10.4014/jmb.0806.380>

9. Molecular aspects of bacterial nanocellulose biosynthesis / P. Jacek et al. *Microbial Biotechnology*. 2019. Vol. 12, no. 4. P. 633–649. URL: <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13386>
10. Martirani-VonAbercron S., Pacheco-Sánchez D. Bacterial cellulose: A highly versatile nanomaterial. *Microbial Biotechnology*. 2023. URL: <https://doi.org/10.1111/1751-7915.14243>
11. Ullah, Muhammad Wajid & Manan, Sehrish & Kiprono, Sabella & Islam, Mazhar & Yang, Guang. Synthesis, Structure, and Properties of Bacterial Cellulose. 2019. URL: <http://dx.doi.org/10.1002/9783527807437.ch4>
12. Zhong C. Industrial-Scale Production and Applications of Bacterial Cellulose. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2020. Vol. 8. URL: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.605374>
13. Self-assembly of bio-cellulose nanofibrils through intermediate phase in a cell-free enzyme system / Y. Kim et al. *Biochemical Engineering Journal*. 2019. Vol. 142. P. 135–144. URL: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2018.11.017>
14. Bioprocess development for bacterial cellulose biosynthesis by novel Lactiplantibacillus plantarum isolate along with characterization and antimicrobial assessment of fabricated membrane / A. K. Saleh et al. *Scientific Reports*. 2022. Vol. 12, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-06117-7>
15. The state-of-the-art application of functional bacterial cellulose-based materials in biomedical fields / H. Qian et al. *Carbohydrate Polymers*. 2022. P. 120252. URL: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.120252>
16. Production and Status of Bacterial Cellulose in Biomedical Engineering / M. Moniri et al. *Nanomaterials*. 2017. Vol. 7, no. 9. P. 257. URL: <https://doi.org/10.3390/nano7090257>
17. Preparation of Komagataeibacter xylinus Inoculum for Bacterial Cellulose Biosynthesis Using Magnetically Assisted External-Loop Airlift Bioreactor / A. Żywicka et al. *Polymers*. 2021. Vol. 13, no. 22. P. 3950. URL: <https://doi.org/10.3390/polym13223950>

18. Moni Gupta, Tenzin Topgyal, Arjumand Zahoor, Sachin Gupta. Eco-friendly microbes for global food security, Editor(s): Ajay Kumar, Samir Droby, Microbial Management of Plant Stresses. *Woodhead Publishing*, 2021, ISBN 9780323851930, URL: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85193-0.00013-9>.
19. Research progress of the biosynthetic strains and pathways of bacterial cellulose / G. Li et al. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 2021. URL: <https://doi.org/10.1093/jimb/kuab071>
20. Production and characterization of bacterial cellulose by Leifsonia sp. CBNU-EW3 isolated from the earthworm, Eisenia fetida / P. Velmurugan et al. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. 2015. Vol. 20, no. 3. P. 410–416. URL: <https://doi.org/10.1007/s12257-014-0793-y>
21. Ayed L., Ben Abid S., Hamdi M. Development of a beverage from red grape juice fermented with the Kombucha consortium. *Annals of Microbiology*. 2016. Vol. 67, no. 1. P. 111–121. URL: <https://doi.org/10.1007/s13213-016-1242-2>
22. Biosynthesis of Bacterial Nanocellulose from Low-Cost Cellulosic Feedstocks: Effect of Microbial Producer / E. A. Skiba et al. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023. Vol. 24, no. 18. P. 14401. URL: <https://doi.org/10.3390/ijms241814401>
23. Wang J., Tavakoli J., Tang Y. Bacterial cellulose production, properties and applications with different culture methods – A review. *Carbohydrate Polymers*. 2019. Vol. 219. P. 63–76. URL: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.05.008>
24. Current progress on the production, modification, and applications of bacterial cellulose / F. G. Blanco Parte et al. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2020. Vol. 40, no. 3. P. 397–414. URL: <https://doi.org/10.1080/07388551.2020.1713721>
25. Strategies for cost-effective and enhanced production of bacterial cellulose / M. U. Islam et al. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2017. Vol. 102. P. 1166–1173. URL: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.04.110>
26. Buldum G., Bismarck A., Mantalaris A. Recombinant biosynthesis of bacterial cellulose in genetically modified Escherichia coli. *Bioprocess and Biosystems*

Engineering. 2017. Vol. 41, no. 2. P. 265–279. URL: <https://doi.org/10.1007/s00449-017-1864-1>

27. Bacterial nanocellulose: engineering, production, and applications / R. R et al. *Bioengineered.* 2021. Vol. 12, no. 2. P. 11463–11483. URL: <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.2009753>

28. Production of bacterial cellulose using *Gluconacetobacter kombuchae* immobilized on *Luffa aegyptiaca* support / S. S. A. Rahman et al. *Scientific Reports.* 2021. Vol. 11, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82596-4>

29. Bacterial Cellulose: Production, Characterization, and Application as Antimicrobial Agent / D. Lahiri et al. *International Journal of Molecular Sciences.* 2021. Vol. 22, no. 23. P. 12984. URL: <https://doi.org/10.3390/ijms222312984>

30. Effects of pH and dissolved oxygen on cellulose production by *Acetobacter xylinum* BRC5 in agitated culture / J. W. Hwang et al. *Journal of Bioscience and Bioengineering.* 1999. Vol. 88, no. 2. P. 183–188. URL: [https://doi.org/10.1016/s1389-1723\(99\)80199-6](https://doi.org/10.1016/s1389-1723(99)80199-6)

31. Enhanced bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter xylinus* via expression of *Vitreoscilla hemoglobin* and oxygen tension regulation / M. Liu et al. *Applied Microbiology and Biotechnology.* 2017. Vol. 102, no. 3. P. 1155–1165. URL: <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8680-z>

32. Bacterial Cellulose as a Versatile Biomaterial for Wound Dressing Application / J. D. P. de Amorim et al. *Molecules.* 2022. Vol. 27, no. 17. P. 5580. URL: <https://doi.org/10.3390/molecules27175580>

33. Yim S. M., Song J. E., Kim H. R. Production and characterization of bacterial cellulose fabrics by nitrogen sources of tea and carbon sources of sugar. *Process Biochemistry.* 2017. Vol. 59. P. 26–36. URL: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2016.07.001>

34. Use of Industrial Wastes as Sustainable Nutrient Sources for Bacterial Cellulose (BC) Production: Mechanism, Advances, and Future Perspectives / A. Kadier et al. *Polymers.* 2021. Vol. 13, no. 19. P. 3365. URL: <https://doi.org/10.3390/polym13193365>

35. Evolution of Bacterial Cellulose in Cosmetic Applications: An Updated Systematic Review / T. J. Oliveira et al. *Molecules*. 2022. Vol. 27, no. 23. P. 8341. URL: <https://doi.org/10.3390/molecules27238341>
36. Bacterial cellulose: A smart biomaterial with diverse applications / D. A. Gregory et al. *Materials Science and Engineering: R: Reports*. 2021. Vol. 145. P. 100623. URL: <https://doi.org/10.1016/j.mser.2021.100623>
37. Potočnik V., Gorgieva S., Trček J. From Nature to Lab: Sustainable Bacterial Cellulose Production and Modification with Synthetic Biology. *Polymers*. 2023. Vol. 15, no. 16. P. 3466. URL: <https://doi.org/10.3390/polym15163466>
38. Bacterial cellulose in biomedical applications: A review / G. F. Picheth et al. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2017. Vol. 104. P. 97–106. URL: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.05.171>
39. Chang W.-S., Chen H.-H. Physical properties of bacterial cellulose composites for wound dressings. *Food Hydrocolloids*. 2016. Vol. 53. P. 75–83. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.12.009>
40. Bacterial cellulose-based biomaterials: From fabrication to application / C. Chen et al. *Carbohydrate Polymers*. 2022. Vol. 278. P. 118995. URL: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118995>
41. Bacterial cellulose: a versatile biopolymer for wound dressing applications / R. Portela et al. *Microbial Biotechnology*. 2019. Vol. 12, no. 4. P. 586–610. URL: <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13392>
42. Exploiting agri-food residues for kombucha tea and bacterial cellulose production / F. Sabatini et al. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2025. P. 140293. URL: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.140293>
43. Antolak H., Piechota D., Kucharska A. Kombucha Tea—A Double Power of Bioactive Compounds from Tea and Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts (SCOBY). *Antioxidants*. 2021. Vol. 10, no. 10. P. 1541. URL: <https://doi.org/10.3390/antiox10101541>

ДОДАТКИ

Додаток А

Активність ЛФ в дослідній групі менша, ніж у контрольній, на всіх строках дослідження, що не на користь збільшення активності процесу кісткоутворювання, проте статистично значущою різниця виявилась лише на строк 2 тижні (на 37 %). Водночас у шурів дослідної групи після застосування ліпосомальної форми кверцетину також менша є активність КФ на ранніх стадіях репаративного остеогенезу (через 1 і 2 тижні після операції, відповідно, на 30 % і 51 %), тобто процес кісткової резорбції послаблений. На подальших строках дослідження активність КФ у шурів дослідної групи порівнянна з аналогічним показником контрольної групи. Коєфіцієнт ЛФ/КФ лише на ранніх строках у шурів дослідної групи більше, ніж контрольної (19,1 проти 14,8 через 1 тиждень; 16,3 проти 12,7 через 2 тижні). У віддаленому періоді (4 і 12 тижнів) різниця між групами за коефіцієнтом ЛФ/КФ є статистично незначущою.

Висновок. Застосування ліпосомальної форми кверцетину у разі пластики дефекту алогеним кістковим матеріалом в експерименті на шурах сприяє зменшенню проявів запалення на ранніх стадіях остеопарації.

Отримання бактеріальної целюлози

¹Косинська Т.В., ¹Гусейнова К.Е., ²Фед'ко М.М., ¹Волошина І.М.

¹Київський національний університет технологій та дизайну, м. Київ, Україна

²ТОВ «Фармхім», м. Шостка, Україна

i_woloschina@yahoo.com

У сучасному світі високе значення приділяється пошуку екологічно стійких та ефективних біоматеріалів, які відповідали б вимогам сталого розвитку. Одним із найпоширеніших та перспективних біополімерів є целюлоза, яка відіграє важливу роль у природних екосистемах та є основним структурним компонентом рослин та деревини. Особливу увагу дослідників здобуває бактеріальна целюлоза (БЦ), що виробляється деякими видами бактерій і відрізняється своєю чистотою та унікальними фізико-хімічними властивостями. Завдяки своїм унікальним характеристикам, таким як висока кристалічність та механічна міцність, БЦ вважається потенційно важливим

Продовження додатка А

матеріалом для застосування в різних галузях, включаючи біомедицину, електроніку, промисловість та сільське господарство.

При вирощенні Комбучі, симбіотичні культури бактерій і дріжджів, які метаболізують цукор, утворюють чайний напій на поверхні якого синтезується целюлозна плівка. Бактеріальна наноцелюлоза – природний полімер, який все частіше використовується для створення нових біоматеріалів, які можна застосовувати в багатьох галузях. Вона виробляється багатьма штамами бактерій, такими як *Komagataeibacter* (раніше *Gluconacetobacter* і *Acetobacter*), *Agrobacter*, *Sarcina* або *Rhizobium* та дріжджами такими як *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, тощо.

Загалом утворення целюлозної плівки на межі повітря-рідина необхідне для того, щоб аеробні бактерії могли отримувати кисень, протистояти стресовим умовам, спричиненим високими концентраціями кислоти та етанолу, і створювати захисний бар'єр проти УФ-випромінювання та зневоднення. До того ж, хімічна структура синтезованої з бактерії целюлози подібна до рослинної, але до її складу не входять такі домішки, як геміцелюлози, лігнін або барвники. За рахунок цього вона є надзвичайно універсальним матеріалом, який застосовується у багатьох галузях, включаючи харчову, біомедичну, фармацевтичну, косметичну та навіть біотехнологічну промисловості. Однак, виробництво характеризується низькою ефективністю, тривалими термінами виробництва та високою собівартістю, тому основна проблема полягає в тому, щоб зробити мікробну целюлозу більш привабливою для ринку.

Бактеріальна целюлоза виробляється в основному двома способами: статичним без перемішування і культивуванням з перемішуванням. Морфологія та властивості БЦ, отриманих цими двома методами, дуже різні, тому вибір методу генерації БЦ залежить від подальшого її застосування. Під час статичного культивування бактерії утворюють суцільну плівку целюлози на поверхні середовища. При перемішуванні більшість штамів утворюють целюлозу у вигляді агрегатів різної форми (гелю) залежно від складу середовища кількості обертів перемішування. Наприклад, статична ферментація придатна для виробництва сировини, яка потребує стабільної

Продовження додатка А

форми, міцності на розрив у вологому стані та високої водоутримуючої здатності (пов'язки на рани, маски для обличчя і т.д.). З іншого боку, мікробна целюлоза, отримана шляхом культивування з перемішуванням, має чудову суспензійну стабільність і в основному використовується для суспендування твердих частинок у напоях та може бути основою для створення біополімерних матеріалів з іншими компонентами. Однак, в обох випадках склад культурального середовища є найважливішою частиною виробництва бактеріальної целюлози. Середовище повинно містити джерело вуглецю (сахарозу, фруктозу, глукозу, патоку, тощо), джерело азоту (пептон, дріжджовий екстракт) та мікро- та макроелементи (фосфор, калій, сірка, магній, тощо). Існує оптимізоване поживне середовище Hestrin-Schramm, для виробництва бактеріальної целюлози, однак для промислового виробництва необхідно досліджувати альтернативні речовини природного походження із дешевих субстратів.

Вплив N-стеароїлетааноламіну на жирнокислотний склад печінки щурів за нормальногота «патологічного» старіння

^{1,3}**Косякова Г.В.,¹Горідько Т.М.,¹Бердишев А.Г.,**

²**Поліщук М.В.,²Ібрагімов К.В.**

¹Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАНУ, м. Київ, Україна

² ННЦ «Інститут біології та медицини» КНУ ім. Т. Шевченка, м. Київ, Україна

³ Національний технічний університет «КПІ імені Ігоря Сікорського», м. Київ, Україна

Kosiakova@hotmail.com

Старінням називають поступовий та незворотний патофізіологічний процес, проявами якого є втрата функцій клітин, тканин і органів через накопичення в них з віком пошкоджень під дією різноманітних стресових чинників, що може призводити до розвитку багатьох захворювань. «Патологічне» старіння в людини більшою мірою характеризується мультиморбідністю, спричиненою хронічним запаленням і є наразі важливою медичною проблемою яка потребує нових підходів до лікування.

Додаток Б



Додаток В

- 146 -

"Молодь і поступ біології", Львів, 18–20 квітня 2024 р.

T2 проростків складав 80 та 84%, відповідно, тоді як нетрансгенних в середньому лише 45,6%. При цьому рівень Pro у генетично модифікованих проростках з дволанцюговим супресором гена *pdh* пшениці за нормальних умов вирощування перевищував показники вихідних форм в 1,6 раз. Тоді як у T2 рослин, з геном *oat* за відповідних умов вирощування не спостерігалось суттєвої різниці в його накопиченні. В умовах осмотичного стресу життезадатність усіх досліджуваних варіантів поєднувалась із збільшенням Pro. Так, у проростків вихідних генотипів в умовах водного дефіциту і засолення його рівень підвищувався у середньому в 2,4 та 3,6 рази, в порівнянні з нормальними умовами вирощування. Тенденція більшої акумуляції проліну в генетично-модифікованих рослин зберігалась не зважаючи на те, що його вміст збільшувався за стресових умов тільки в два рази. Незначна відмінність в акумуляції проліну також спостерігалась між T2, що містять ген *oat* та їх вихідними формами в умовах засолення.

Таким чином, у трансгенних рослин пшениці з дволанцюговим РНК супресором гена *pdh*, підвищений рівень стійкості до осмотичних стресів корелює з накопиченням вільного L-проліну. Підсилення експресії гена *oat* не відображається на вмісті цієї амінокислоти, але сприяє кращому виживанню проростків за умов водного дефіциту та засолення.

Косинська Т., Петрух А., Волошина І.

**ВПЛИВ ДЖЕРЕЛА ВУГЛЕЦЮ НА БІОСИНТЕЗ
БАКТЕРІАЛЬНОЇ ЦЕЛЮЛОЗИ**

Київський національний університет технологій та дизайну
бул. Мала Шияновська, 2, м.Київ, 01011, Україна
e-mail: tomakosynska2000k@gmail.com

Kosynska T., Petruh A., Voloshyna I. INFLUENCE OF CARBON SOURCE ON THE BIOSYNTHESIS OF BACTERIAL CELLULOSE, In modern biotechnology, the study of the influence of the carbon source on the biosynthesis of bacterial cellulose is an urgent problem. Research results indicate that the variety of carbon sources can significantly affect the quantity and quality of synthesized cellulose. Some carbon sources, such as glucose or glycerol, can stimulate more intensive cellulose biosynthesis compared to other substrates. Understanding this effect is important for optimizing the bacterial cellulose production process and developing new strategies. Research in this direction opens up prospects for improving biotechnological processes and expanding the use of bacterial cellulose in various fields.

Вивчення впливу джерела вуглецю на біосинтез бактеріальної целюлози (БЦ) є важливим аспектом для отримання бактеріальної целюлози. Мікробна целюлоза має широкий спектр застосувань у медицині, харчовій промисловості та інших галузях, що підсилює інтерес до

Продовження додатка В

оптимізації її виробництва. Дослідження показують, що джерело вуглецю впливає на ріст, морфологію та властивості бактерій які синтезують целюлозу. Різноманітність вуглеводів у середовищі культивування може визначати ефективність біосинтезу целюлози. Наприклад, вуглеводи з простими структурами, такі як глюкоза чи фруктоза, можуть бути кращими джерелами вуглецю для цього процесу порівняно зі складними вуглеводами, такими як полісахариди. Також, для удосконалення процесу виробництва бактеріальної целюлози можна використовувати альтернативні джерела вуглецю, наприклад залишкові продукти молочної промисловості, ананасового агробізнесу, біодизельного виробництва та кондитерської промисловості, пшенична солома, фруктові соки, гнилі фрукти, патока та інші.

Мета даного дослідження полягає у вивченні впливу різних джерел вуглецю на процес біосинтезу бактеріальної целюлози. Першочерговим завданням є встановлення оптимального джерела вуглецю та умов культивування асоціації мікроорганізмів з метою збільшення виходу БЦ. Наприклад, якщо використовувати прості вуглеводи, такі як глюкоза чи фруктоза, як джерела вуглецю для культивування мікроорганізмів-продуцентів целюлози, можна очікувати підвищення продукції цієї речовини. Це може бути зумовлено тим, що прості вуглеводи легше метаболізуються бактеріями, що відповідають за біосинтез целюлози, та забезпечують більше вуглецю та енергії для процесу синтезу.

Крім того, метою є розуміння метаболічних механізмів, які регулюють процес біосинтезу целюлози в залежності від джерела вуглецю. На основі цих даних можна буде розробити стратегії для підвищення виробництва бактеріальної целюлози з мінімальними витратами ресурсів. Для отримання бактеріальної целюлози нами були використані різноманітні джерела вуглецю, а саме: сахароза, лактоза, глюкоза, фруктоза, крохмаль, етанол та меляса. Також використовували їх змішані субстрати. Було доведено, що вищий рівень БЦ спостерігали при вирощуванні мікробної асоціації на сахарозі (67-70 г/л), глюкозі (127-153 г/л) та на змішаному субстраті сахароза-глюкоза (107-110 г/л). Найгірші результати були отримані на етанолі, фруктозі та крохмалі (10-40 г/л). На лактозі, мелясі та змішаних субстратах лактоза-глюкоза, лактоза-сахароза вихід БЦ склав 53-60 г/л.

Отже, знання про вплив різних джерел вуглецю на біосинтез целюлози може бути корисним для розробки стратегій підвищення виробництва цієї важливої біополімерної речовини. Але на наступному етапі необхідно оптимізувати співвідношення С/Н та встановити інші параметри культивування. Тому проведення подальших досліджень у цьому напрямку є необхідним для оптимізації процесу отримання бактеріальної целюлози.



Продовження додатка Г

бактерії адсорбуються та утворюють біоплівки на межі нафта-вода, є важливим і може мати величезний суспільний та економічний вплив. Продукт біоремедіації також може бути корисним, наприклад, коли бактерії виробляють органічні сполуки або полімери комерційної цінності. Одним із прикладів біополімерів, вироблених бактеріями, які користуються великим попитом, є мікробна целюлоза. Однак бактеріальна адсорбція та утворення біоплівки на рідких поверхнях суттєво відрізняються від добре вивченого процесу утворення біоплівки на твердих поверхнях. Мікробна целюлоза має широкий спектр застосувань у медицині, харчовій промисловості та інших галузях, що підсилює інтерес до оптимізації її виробництва. На виробництво мікробних біоплівок впливають різні фактори, такі як вид культури, склад і кількість С/N, мікро- та макроелементів, pH, розчинений кисень, температура.

Мета даного дослідження полягає у отриманні мікробної целюлози змінюючи джерела карбону та нітрогену. Першочерговим завданням є встановлення оптимального джерела вуглецю та умов культивування асоціації мікроорганізмів з метою збільшення виходу бактеріальної целюлози (БЦ). Середовище, яке використовується для культивування асоціації мікроорганізмів БЦ, є середовище Hestrin-Schramm. Воно характеризується присутністю глюкози як єдиного джерела карбону. Однак наші дослідження показали, що вищий рівень БЦ спостерігали при вирощуванні мікробної асоціації на сахарозі (67-70 г/л), глюкозі (127-153 г/л) та на змішаному субстраті сахароза/глюкоза (107-110 г/л). Найгірші результати були отримані на етанолі, фруктозі та крохмалі (10-40 г/л). На лактозі, м'якоті та змішаних субстратах лактоза/глюкоза, лактоза/сахароза вихід БЦ становив 53-60 г/л. Однак велике значення має вміст джерела нітрогену в складі поживного середовища. Багато науковців описують, що як джерело нітрогену та різних мікро- та макроелементів використовують чорний або зелений чай у досить високих концентраціях до 5 г/л. Ми встановили, що достатня концентрація чаю 0,5 г/л за умови внесення у середовище додаткового вмісту нітрогену. Результати показали, що при внесенні у середовище з джерелом сахароза/глюкоза додатково 5 г/л джерела нітрогену (кукурудзяна мука та/або дріжджовий екстракт, пептон) вихід БЦ збільшився майже удвічі. Отже при внесенні кукурудзяної муки вихід БЦ становив 247-253 г/л, дріжджового екстракту - 260-267 г/л, а пептону 267-327 г/л. Вагу бактеріальної целюлози вимірювали після видалення зайвої води. Отже, знання про вплив різних джерел вуглецю та нітрогену на біосинтез целюлози може бути корисним для отримання більшого виходу мікробної целюлози. Але на наступному етапі необхідно оптимізувати співвідношення С/N та встановити інші параметри культивування. Тому проведення подальших досліджень у цьому напрямку є необхідним для оптимізації процесу отримання бактеріальної целюлози.



ВИКОРИСТАННЯ БАКТЕРІАЛЬНОЇ ЦЕЛЮЛОЗИ У АГРОПРОМISЛОВОМУ СЕКТОРІ

T.B. Косинська¹, студентка з курсу спеціальності 162 «Біотехнологія»

B.YO. Потупа¹, студентка з курсу спеціальності 162 «Біотехнологія»

I.M. Волошина², кандидат технічних наук, доцент, доцент кафедри біотехнології, ішкери та хутра

L.B. Шкотова², кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник

¹Київський національний університет технологій та дизайну

²Інститут молекулярної біології і генетики НАН України

E-mail: i_woloschyna@yahoo.com

Бактеріальна целюлоза (БЦ) – це природний полімер, який можливо використовувати для створення біоматеріалів, які можна застосовувати в аграрному секторі. Бактеріальну целюлозу утворюють багато різних штамів бактерій, такими як *Komagataeibacter* (*Gluconacetobacter*, *Acetobacter*), *Agrobacteriia*, *Sarcina* або *Rhizobiium* та дріжджами такими як *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, тощо. Але найкраще отримувати БЦ за допомогою мікробного угрупування *Combuchia*. Хімічна структура синтезованої з мікробного угрупування целюлози подібна до рослинної, але до її складу не входять такі домішки, як геміцелюлози, лігнін або барвники. За рахунок цього вона є надзвичайно універсальним матеріалом, який застосовується у багатьох галузях, включаючи харчову, біомедичну, косметичну промисловості тощо. Однак, бактеріальна целюлоза є важливим біополімером, що відкриває перед агропромисловим сектором широкі можливості для створення інноваційних та екологічно чистих рішень. Її унікальні властивості дозволяють застосовувати цей матеріал у виробництві біорозкладних полімерних матеріалів та біопрепаратів для ґрунту. Використання целюлози може покращити стійкість рослин до стресових умов та підвищити урожайність, сприяючи сталому розвитку сільськогосподарського виробництва. Інноваційні застосування целюлози в агропромисловості відкривають шлях до більш ефективного використання природних ресурсів та збереження навколошнього середовища.

Бактеріальна целюлоза може бути використана в агропромисловості з метою покращення продуктивності та стійкості сільськогосподарських систем. Оскільки це біорозкладний матеріал, що спрямований на зменшення забруднення довкілля в агропромисловому виробництві. Літературні дані також свідчать про потенціалу целюлози у захисті рослин від хвороб та шкідників через створення біоплівок для насіння та розробку біопрепаратів для ґрунту.

Продовження додатка Е

Використання бактеріальної целюлози в агропромисловості може мати значний потенціал у покращенні та збільшенні врожаю сільськогосподарських культур, тому що БЦ зв'язана з гербіцидами дасть змогу знишувати бур'яни. Крім того, бактеріальна целюлоза може зберігати вологу в ґрунті та підвищувати його родючість за рахунок утримання та повільного вивільнення біостимуляторів росту рослин та необхідних мікро- та макроелементів (цинк, бор, залізо, тощо). Це дасть доступність рослинам використовувати їх уповільнено та знизити збільшене внесення у ґрунти хімічних речовин. Біоплівки з бактеріальної целюлози на насінні сприяють покращенню проростання та захисту рослин від шкідників. Дослідження показують, що целюлоза може допомагати зберігати вологу в ґрунті, підтримуючи оптимальні умови для росту рослин. Крім того, застосування целюлози в біопрепаратах для ґрунту сприяє покращенню родючості ґрунту та збільшенню врожаю за рахунок підвищення стійкості рослин до стресу та хвороб. Також полімерні матеріали на основі бактеріальної целюлози демонструють високе біорозкладання і можуть бути використані для створення екологічно чистих упаковок та матеріалів.

Отже бактеріальна целюлоза виявляє значний потенціал у агропромисловому секторі через свої унікальні властивості. Вона може бути використана для створення біорозкладних полімерних матеріалів, які допомагають зменшити відходи та негативний вплив на довкілля. Крім того, бактеріальна целюлоза забезпечує захист насіння від шкідників та хвороб, сприяє збереженню вологи в ґрунті та покращенню родючості ґрунту. Її застосування може призвести до збільшення врожайності рослин та підвищення стійкості сільськогосподарських культур до стресу.

СПОСОБИ УТИЛІЗАЦІЇ ОСАДУ СТІЧНИХ ВОД КОМУНАЛЬНИХ ПІДПРИЄМСТВ ДЛЯ ОТРИМАННЯ ОРГАНІЧНОГО ДОБРИВА

*В.І. Кравченко, кандидат технічних наук, доцент, доцент кафедри гідротехнічного будівництва, водної та електричної інженерії Харківський державний аграрно-економічний університет
E-mail: cerb_kravchenko@ukr.net*

Кілька десятиліть проблема утилізації осадів стічних вод (ОСВ), що накопичилися на мулових майданчиках комунальних очисних спорудах країни і забруднюють навколошнє середовище, залишається економічною та екологічною. Ця кількість осадів в Україні сягає більше 5 млрд. т, зокрема, наприклад, у місті Кропивницький щорічно утворюється до 3600 т мулу [1].

УДК: 606.61+579.6

КОСИНСЬКА Т.В., ГУСЕЙНОВА К.Е., ВОЛОШИНА І.М.
Київський національний університет технологій та дизайну

ВИКОРИСТАННЯ БАКТЕРІАЛЬНОЇ ЦЕЛЮЛОЗИ У КОСМЕТИЧНІЙ ГАЛУЗІ

Бактеріальна целюлоза – це унікальний біоматеріал, який привертає все більше уваги в різних галузях промисловості. Останнім часом поччастішала екологічна проблема, викликана косметичними продуктами, отриманими з токсичних речовин. Тому дослідники та розробники косметичних засобів шукають нові натуральні альтернативи, які добре підходять споживачеві та мають характеристики біологічного розкладання. Під ці критерії підходить бактеріальна целюлоза, яка може використовуватись у якості біополімеру для основ масок. Синтезована бактеріями, такими як *Gluconacetobacter xylinus*, ця целюлоза має вищу чистоту та унікальні властивості, що робить її ідеальним компонентом для косметичних продуктів. Вона складається з тонких, міцних волокон, які можуть утримувати значну кількість води, що забезпечує інтенсивне зволоження шкіри. Завдяки своїй біосумісності та відсутності токсичних домішок, бактеріальна целюлоза є безпечною для використання [1].

В косметологічній промисловості одним із найпоширеніших способів використання бактеріальної целюлози є виробництво гідрогелевих масок для обличчя, які забезпечують інтенсивне зволоження та живлення шкіри. Також бактеріальну целюлозу використовується у виробництві тканин для догляду за шкірою, що можуть бути насычені різними активними інгредієнтами, такими як гіалуронова кислота та колаген. Її регенеративні властивості роблять бактеріальну целюлозу ефективним компонентом у засобах для лікування ран і шрамів, сприяючи швидшому загоєнню та зменшенню рубців. У боротьбі з акне бактеріальна целюлоза також знайшла своє застосування завдяки своїм антибактеріальним властивостям, які допомагають зменшити запалення і очищати шкіру. Антивікові продукти на основі бактеріальної целюлози забезпечують глибоке зволоження та сприяють розгладженню зморшок, покращуючи загальний стан шкіри. Крім того, бактеріальна целюлоза

Продовження додатка Є

служить ефективною основою для доставки активних інгредієнтів у шкіру, забезпечуючи контрольоване вивільнення та тривалий ефект. Завдяки своїм ніжним абразивним властивостям, бактеріальна целюлоза використовується у скрабах та інших засобах для очищення шкіри, деликатно віддашуючи мертві клітини і залишаючи шкіру свіжою та гладкою. Додатково, бактеріальна целюлоза застосовується в засобах для догляду за волоссям, таких як кондиціонери та маски, покращуючи текстуру волосся та надаючи йому блиск. Всі ці переваги роблять бактеріальну целюлозу універсальним і перспективним компонентом для косметологічної індустрії, сприяючи розвитку нових, ефективних продуктів для догляду за шкірою [2, 3].

Бактеріальна целюлоза має широке застосування в медицині завдяки своїм унікальним властивостям. Вона використовується для виготовлення біоактивних перев'язок, які сприяють швидкому загосненню ран і опіків, забезпечуючи вологу середу та захист від інфекцій. Також бактеріальна целюлоза застосовується в створенні біоінженерних тканин і протезів завдяки своїй біосумісності та високій міцності. Вона може бути використана як матеріал для виготовлення штучних кровоносних судин, що мінімізує ризик відторгнення та покращує інтеграцію з природними тканинами. Крім того, бактеріальна целюлоза слугує основою для розробки медикаментозних гелів і пластирів, які забезпечують контрольоване вивільнення лікарських речовин [4].

Бактеріальна целюлоза є невід'ємною частиною сучасної косметології та медицини, привертаючи увагу завдяки своїм унікальним властивостям та широкому спектру застосувань. Її висока біосумісність, ефективність та екологічна безпечність роблять її ідеальним вибором для виробництва косметичних та медичних засобів. Використання бактеріальної целюлози сприяє розвитку інноваційних продуктів, що відповідають сучасним вимогам споживачів. Завдяки своїм унікальним характеристикам, цей біоматеріал має потенціал стати ключовим компонентом у виробництві продуктів для догляду за шкірою та лікування медичних проблем. У подальшому вивченні та розвитку цієї технології можна очікувати ще більшого прогресу у галузі косметології та медицини. [1, 3].

Література:

1. Blanchet RT, Vieira Cubas AL, Machado MM, Siegel Moecke EH. Applicability of bacterial cellulose in cosmetics - bibliometric review. Biotechnol Rep (Amst). 2020 Jul 8;27:e00502. doi: 10.1016/j.btre.2020.e00502.
- 2.Oliveira TJ, Segato TCM, Machado GP, Grotto D, Jozala AF. Evolution of Bacterial Cellulose in Cosmetic Applications: An Updated Systematic

Продовження додатка Є

Review. Molecules. 2022 Nov 30;27(23):8341. doi: 10.3390/molecules27238341.

3. de Amorim JDP, da Silva Junior CJG, de Medeiros ADM, do Nascimento HA, Sarubbo M, de Medeiros TPM, Costa AFS, Sarubbo LA. Bacterial Cellulose as a Versatile Biomaterial for Wound Dressing Application. *Molecules*. 2022 Aug 30;27(17):5580. doi: 10.3390/molecules27175580.

4. Revin VV, Liyaskina EV, Parchaykina MV, Kuzmenko TP, Kurgaeva IV, Revin VD, Ullah MW. Bacterial Cellulose-Based Polymer Nanocomposites: A Review. *Polymers (Basel)*. 2022 Nov 2;14(21):4670. doi: 10.3390/polym14214670

УДК 664.68

¹КОСЯК А.Ю., ^{1,2}ПЕНЧУК Ю.М.

¹Національний університет харчових технологій

²Київський національний університет імені Тараса Шевченка

ПІДСОЛОДЖУВАЧІ МІКРОБНОГО ПОХОДЖЕННЯ ЯК АЛЬТЕРНАТИВА СИНТЕТИЧНИМ

Підсолоджувачі, які можна використовувати замість звичайного цукру (сахарози) стають все більш популярними у сучасному світі через необхідність контролювати споживання калорій та рівень цукру в крові. Ця тенденція зумовлює актуальність досліджень та розробок у сфері цукрозамінників, сприяючи поліпшенню якості життя багатьох людей [1, 2].

Одержання цукрозамінників за допомогою мікроорганізмів представляє собою перспективний напрям у сучасній біотехнології. Це не тільки сприяє створенню здоровіших продуктів харчування, але й підтримує сталій розвиток і екологічну безпеку. Зважаючи на зростаючі вимоги до якості життя та екологічної стійкості, дослідження та впровадження мікробних методів виробництва цукрозамінників є вкрай важливими і актуальними для майбутнього [3].

Замінники цукру набагато солодші за цукор і тому для досягнення бажаної солодкості потрібні лише невеликі кількості. До найпопулярніших представників відносять аспартам (міститься в багатьох дієтичних газованих напоях і продуктах без цукру). Він приблизно в 200 разів солодший за цукор, але має однакову калорійність на грам, хоча використовується в дуже невеликих кількостях), сукралозу та ацесульфам калію[1, 2].

До підсолоджувачів також відносять цукрові спирти, які містяться у фруктах і овочах. Вони містять менше калорій, ніж цукор, і менше



КАФЕДРА ХІМІЧНИХ ТЕХНОЛОГІЙ, ЕКСПЕРТИЗИ ТА БЕЗПЕКИ ХАРЧОВОЇ ПРОДУКЦІЇ

СЕРТИФІКАТ

ПІДТВЕРДЖУЄ УЧАСТЬ

Косинської Тамари Володимирівни

В VI ВСЕУКРАЇНСЬКІЙ НАУКОВО-ПРАКТИЧНІЙ КОНФЕРЕНЦІЇ "СТАН І
ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ ХІМІЧНОЇ, ХАРЧОВОЇ ТА ПАРФУМЕРНО-
КОСМЕТИЧНОЇ ГАЛУЗЕЙ ПРОМИСЛОВОСТІ"

М. ХЕРСОН
М. ХМЕЛЬНИЦЬКИЙ
31 ТРАВНЯ 2024 РОКУ



ректор ХНТУ, д.т.н., професор
Олена ЧЕПЕЛЮК

