

РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ ВИРОБНИЦТВА

ПРОБІОТИКУ «СПОРО-ЛЕКС»

О. В. МАЧУСЬКИЙ, докторант

Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: dr.machuskyu@yahoo.com

[https://doi.org/10.31548/dopovid3\(103\).2023.013](https://doi.org/10.31548/dopovid3(103).2023.013)

Анотація. Важливим елементом якості пробіотиків є технологія їх виробництва. Існує велика варіабельність між результатами доклінічних та клінічних випробувань пробіотичних мікроорганізмів. Великою мірою на це впливає технологія та умови виробництва пробіотиків.

Метою роботи було порівняння технологій виробництва пробіотику «Споро-лекс». Пробиотик «Споро-лекс» - це суміш пробіотичних культур *Bacillus licheniformis* VK-25 та *Bacillus subtilis* МК-3, сорбованих на комплексі активованих із додаванням природного стандартизованого сорбенту. Було розроблено два варіанти технології виробництва пробіотику «Споро-лекс»: в рідкому поживному середовищі та на щільному поживному середовищі. Під час випробувань розробляли проміжні контролю якості.

У результаті проведених досліджень було сформовано переліки проміжних контролів якості під час виробництва пробіотику «Споро-лекс» в рідкому поживному середовищі та на щільному поживному середовищі. Встановлено, що виготовлення на щільному поживному середовищі є більш швидким та рентабельним, оскільки потребує лише 4 стадії проміжного контролю, порівняно із 5 стадіями під час виготовлення в рідкому поживному середовищі. У залежності від стадії та технології виробництва проводили різні проміжні дослідження, що включали в себе мікроскопію, визначення типовості росту, визначення контамінації сторонньою бактеріальною та грибною мікрофлорою, визначення спороутворення, визначення концентрації колонієутворюючих одиниць. Також під час досліджень було сформовано та випробувано перелік показників контролю якості готового пробіотику «Споро-лекс». Доведено, що процес спороутворення під час виготовлення пробіотику «Споро-лекс» на щільному поживному середовищі відбувався швидше на 24 години у порівнянні з технологією виробництва у рідкому поживному середовищі. Технологія виготовлення пробіотику на щільному поживному середовищі забезпечувала формування більш зрілої спори, що призводило до стабільності препарату під час зберігання за показником «кількість живих клітин в 1 г продукту». За рештою показників якості, обидві технології однаково забезпечували стабільність продукту в процесі зберігання протягом 36 місяців.

Ключові слова: пробиотик, технологія виробництва, стабільність, контроль якості

Одним із головних факторів, що впливають на здоров'я та продуктивність тварин, є мікробіологічний баланс їхньої травної системи. Існує велика кількість чинників зовнішнього середовища, що погіршує стан кишкової мікрофлори тварин, викликаючи різного ступеня дисбіози (Riviere et al., 2009). Пробиотики – це мікроорганізми, які забезпечують травну систему тварин корисною мікрофлорою. Вони допомагають покращити здоров'я тварин, поліпшити їх добровну ефективність та забезпечити більш ефективну продуктивність. Пробиотики стали важливою частиною сучасної технології в тваринництві (Cho et al., 2010). За останні кілька десятиліть використання пробіотиків у тваринництві значно зросло, оскільки їхнє використання допомагає забезпечити належний рівень здоров'я та продуктивності тварин, що в свою чергу позитивно впливає на доходи фермерів. На ринку існує велика кількість різних продуктів, що містять пробіотичну для тварин мікрофлору. Це як і монокомпонентні препарати, так і багатокомпонентні. Багатокомпонентні препарати можуть містити різні пребіотичні добавки, вітаміни, амінокислоти тощо (Salem, 2013). Але, на наш погляд, не менш важливою складовою технології годівлі тварин є сорбенти. Переважно, вони використовуються для підтримання здоров'я та

продуктивності тварин, захищаючи від негативного впливу мікотоксинів. Тому, було розроблено пробіотик «Споро-лекс», що містить сорбент (монтморилоніт). Сорбенти – це матеріали, що взаємодіють з токсинами та іншими небезпечними речовинами, затримуючи їх у своїй структурі та запобігаючи їхньому впливу на травну систему тварин. Монтморилоніт – це мінерал, що має властивості зберігати та затримувати шкідливі речовини в травній системі тварин.

Використання монтморилоніту може допомогти знизити ризик захворювання тварин, забезпечити їхнє здоров'я та добробут. Монтморилоніт має високу поверхню поглинання та здатність взаємодії з різними токсинами та іншими небезпечними речовинами. Використання монтморилоніту може допомогти зменшити негативний вплив шкідливих речовин на травну систему тварин, запобігти розвитку захворювань та покращити продуктивність (Gupta et al., 2019).

Важливим елементом якості пробіотиків є технологія їх виробництва. Оскільки пробиотики – це складні промислові продукти, а більшість досліджень штамів пробіотичних бактерій проводяться з нативними культурами штамів. Мало відомо про вплив промислових процесів на властивості мікроорганізмів. (Nivoliez et al., 2012) у своєму дослідженні порівняли характеристики пробіотичного

Мачуський О. В.

бактеріального штаму *Lactobacillus rhamnosus* Lcr35 (R) разом із чотирма його комерційними композиціями, включаючи три кишкові формули та одну вагінальну суміш. Виробничий штам, вирощений з кишкових сумішей, продемонстрував підвищену стійкість до кислого рН і жовчі та показав на 4,5 log більшу кількість життєздатних бактерій порівняно з результатами, отриманими з контрольним природним Lcr35. Адгезія до кишкових клітин була значно вищою з пакетом *Lcr Restituo* (R) і капсулою *Lcr Restituo* (R) порівняно з Lcr35 (R). Бактерії з вагінального препарату мали підвищену здатність метаболізувати глікоген, тим самим збільшуючи виробництво молочної кислоти. *In vitro* інгібування росту збудника *Candida albicans* було значно вищим у бактерій із вагінального препарату (різниця 4,5 log) і в присутності вагінальних епітеліальних клітин, ніж у нативного штаму.

Існує велика варіабельність між результатами доклінічних (лабораторних) та клінічних (польових) випробувань пробіотичних мікроорганізмів. Великою мірою на це впливає технологія та умови виробництва пробіотиків (Mortazavian et al., 2022). Умови виробничого процесу, такі як середовище для росту та методи попередньої обробки, можуть суттєво вплинути на адгезійну здатність

досліджуваних штамів. Умови росту, середовище росту, методи попередньої обробки та різні комбінації пробіотиків повинні бути ретельно вивчені для контролю якості пробіотиків. Адже пробіотична мікрофлора ветеринарного пробіотику може мати вплив і на людей (Grzeskowiak et al., 2013).

Оскільки пробіотики – це живі мікроорганізми за визначенням, а отже, одним із найважливіших аспектів якості є збереження життєздатності пробіотичних мікроорганізмів протягом тривалого часу. Тому важливо, щоб готовий продукт містив життєздатні клітини. Життєздатність зазвичай вимірюється в колонієутворюючих одиницях. В додаток, для оптимальної ефективності пробіотичної формули для кінцевого споживача важливо забезпечити життєздатність мікробних клітин до кінця терміну придатності (стабільність). Багато різних факторів можуть впливати на стабільність пробіотиків, включаючи фактори навколишнього середовища такі як, вологість, температура зберігання, рН продукту і вплив кисню (Gioia & Biavati, 2018). Щоб забезпечити життєздатність і стабільність пробіотиків, слід приділяти увагу технологічним аспектам продукту, таким як посівні культури, кінцевий формат продукту, пакувальний матеріал, умови зберігання, транспортування та логістика, оскільки всі ці фактори

Мачуський О. В.

можуть мають великий вплив на життєздатність продукту протягом усього терміну придатності (Drumet et al., 2020).

Метою роботи було порівняння технологій виробництва пробіотику «Споро-лекс».

Матеріали і методи. Пробіотик «Споро-лекс» - це суміш пробіотичних культур *Bacillus licheniformis* VK-25 та *Bacillus subtilis* МК-3, сорбованих на комплексі активованих із додаванням природного стандартизованого сорбенту (Таблиця 1).

1. Склад 1 г пробіотику «Споро-лекс»

Активні компоненти	<i>Bacillus licheniformis</i> VK-25	$\geq 10^8$ КУО
	<i>Bacillus subtilis</i> МК-3	$\geq 10^8$ КУО
Допоміжні компоненти	монтморилоніт	до 1 гр
	маннанолігосахариди	

Для досягнення поставленої мети, на основі літературних даних (Charalampopoulos & Rastall, 2009; Sola-Oladokun et al., 2017), було розроблено два варіанти технології

виробництва пробіотику «Споро-лекс»: в рідкому поживному середовищі та на щільному поживному середовищі (Рисунок 1 та Рисунок 2).

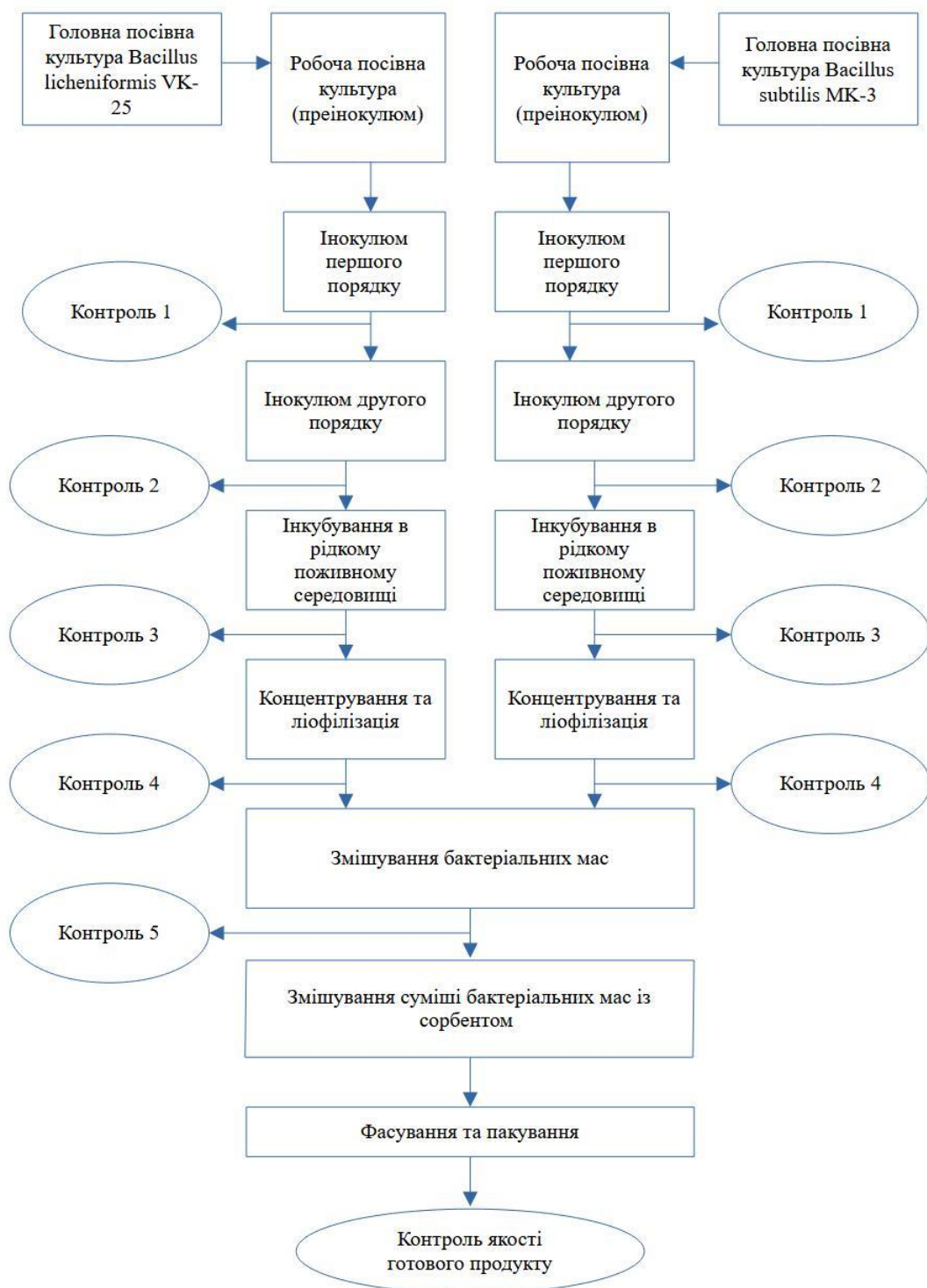


Рис. 1. Схематичне зображення технології виробництва пробіотику «Споро-лекс» в рідкому поживному середовищі

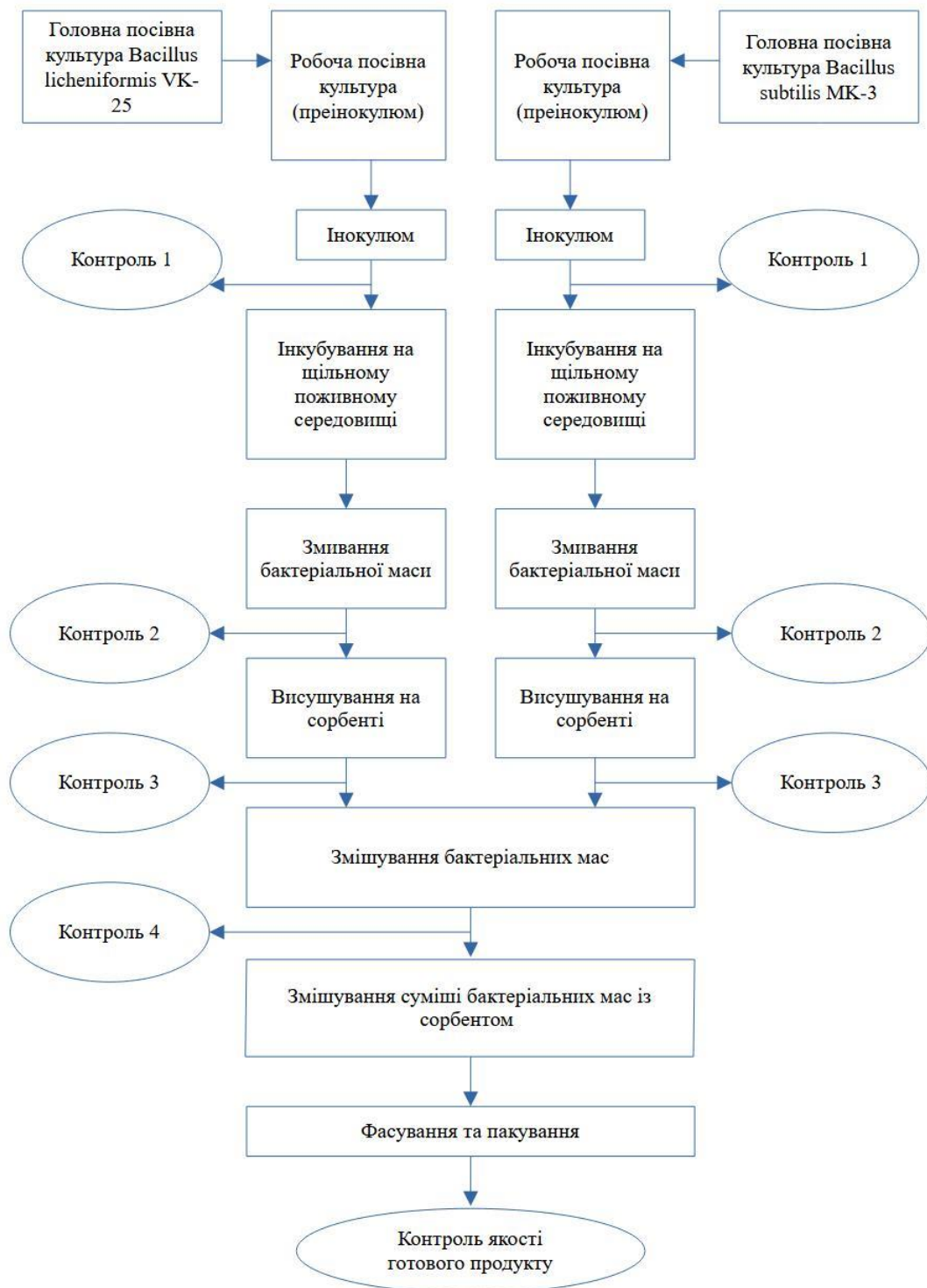


Рис. 2. Схематичне зображення технології виробництва пробіотику «Споро-лекс» на щільному поживному середовищі

Мачуський О. В.

Під час випробувань розробляли проміжні контролю якості (контроль якості під час виробництва), що забезпечували контрольоване виробництво.

Дослідження проводили на Херсонському державному підприємстві – біологічна фабрика.

Для виробництва пробіотику використовували виробничі штами *Bacillus licheniformis* VK-25 та *Bacillus subtilis* МК-3, депоновані в Національному центрі штамів мікроорганізмів.

Штам бактерій *Bacillus licheniformis* VK-25 виділено з ґрунту. Клітини грампозитивні, здатні утворювати спори, тип дихання аеробний. Гідролізує глюкозу, мальтозу, сахарозу, оксидазо- і каталазопозитивні. При аеробному вирощуванні утилізує ацетат і цитрат. Пригнічує ріст стафілококів, сальмонел, протея, кандидомікозів, синьогнійної палички та інших патогенних мікроорганізмів. Розміри вегетативних клітин 3-5 мкм. Спори поодинокі, центральні або овальні.

Вегетативні клітини *Bacillus licheniformis* VK-25 добре ростуть на збагачених поживних середовищах - мясопептонний агар (МПА), мясопептонний бульйон (МПБ) і напіврідкий агар (ПЖА) за температур 40 ° С, рН 5,0-8,0. На МПА утворює колонії білого кольору. Пігмент в середовище не виділяє. Спостерігається ріст до 8% NaCl. Не зброджує лактозу та маніт.

Для культивування штаму *Bacillus licheniformis* VK-25 використовують рідке поживне середовище на основі 0,3 % ферментативних гідролізатів м'язів сухого (ФГМС), рН 6,0, що містить 0,2 % глюкозу (по сухій речовині), 0,005% амінопептиду.

Штам бактерій *Bacillus subtilis* МК-3 є аеробом та факультативним анаеробом. Росте за температури 20-45° (оптимум 40° С). Морфологія колоній: конфігурація колоній варіює від опуклої, круглої та волокнистої з мембраноподібною поверхнею до компактних колоній з вертикальним гребенем з білуватою мембраною, що утворює хрестоподібну конфігурацію. Колонії не прикріплені або, частково прикріплені до поживного середовища. Діаметр колоній 4-8 мм. Мікроскопія мазків за Грамом: прямі палички 0.5-2.5×1.2 - 10 мкм з заокругленими або обрубленими кінцями, часто в парах, ланцюжком. Грампозитивні. Ендоспори овальні, іноді сферичні, циліндричні. Рухливість: рухливі за рахунок перитрихіальних джгутиків. Хемоорганотрофи; метаболізм бродильного або дихального типу. Каталазопозитивні.

Штами *Bacillus licheniformis* VK-25 та *Bacillus subtilis* МК-3 нетоксичні для тварин, людей і рослин. Продукують протимікробні речовини широкого спектру дії, що пригнічують ріст стафілококів,

Мачуський О. В.

мікроскопічних грибів і синьогнійної палички.

Під час проведення контролів у процесі виробництва та контролю якості готового продукту проводили наступні дослідження:

- визначення зовнішнього вигляду проводили візуально в циліндрі з притертим корком або в біологічній пробірці з використанням фону білого кольору;

- визначення вологості препарату виконували згідно з ДСТУ 8611:2016;

- визначення маси продукту у одиниці пакування проводили шляхом зважування на повірених електронних терезах;

- визначення контамінації сторонньою бактеріальною і грибною мікрофлорою (КСБГМ) проводили згідно з ДСТУ 4483-2005;

- визначення типовості росту проводили шляхом культивування виробничих штамів на поживних середовищах: м'ясопептонний агар (МПА), м'ясопептонний бульйон (МПБ) і напіврідкий агар (ПРА) за температур 40 ° С, рН 5,0-8,0;

- визначення спороутворення проводили шляхом мікроскопії краплі нативного матеріалу в камері Горяєва;

- кількість колонієутворюючих одиниць (КУО) в 1 грамі визначали методом серійних розведень з послідовним висівом на щільні поживні середовища та підрахунком колоній, що вирости;

Підрахунок проводили відповідно до формули:

$$K = a/n \times 10 \times 10^x, \text{ де}$$

K - кількість живих бактерій у 1 см³ даного розведення);

a - кількість колоній у чашках;

n - кількість чашок;

10 - коефіцієнт перерахунку на 1 см³;

10^x - ступінь розведення.

- нешкідливість визначали на білих мишах вагою 18-20 г, згодовуючи препарат *per os*.

- антагоністичні властивості визначали методом відстроченого антагонізму, використовуючи еталонні тест-культури *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* O157, *Proteus mirabilis* H-237 або 56/10 та *Candida albicans* ATCC 10231, що отримували із Національного центру штамів мікроорганізмів.

Утримання та поводження з тваринами проводили з дотриманням вимог «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» від 18 березня 1986 року.

Експериментальні дані обробляли методами варіаційної статистики за загально прийнятими методиками.

Результати й обговорення. У результаті проведених досліджень було сформовано переліки проміжних контролів якості під час виробництва пробіотику «Споро-лекс» в рідкому

Мачуський О. В.

поживному середовищі (Таблиця 2) та на щільному поживному середовищі (Таблиця 3).

2. Проміжні контролю якості під час виробництва пробіотику «Споро-лекс» в рідкому поживному середовищі

Номер контролю	Показник	Референтне значення
Контроль 1	Мікроскопія	Типові паличкоподібні мікроорганізми
	КСБГМ	Вільний від контамінації
Контроль 2	Мікроскопія	Типові паличкоподібні мікроорганізми
	Типовість росту	Типові культуральні властивості
	КСБГМ	Вільний від контамінації
Контроль 3	Мікроскопія	Типові паличкоподібні мікроорганізми
	КСБГМ	Вільний від контамінації
	Спороутворення	$\geq 98\%$
	Концентрація КУО	$\geq 10^8$ КУО/гр
Контроль 4	КСБГМ	Вільний від контамінації
	Концентрація КУО	$\geq 10^8$ КУО/гр
Контроль 5	Концентрація КУО	$\geq 2 \times 10^8$ КУО/гр

Встановлено, що виготовлення на щільному поживному середовищі є більш швидким та рентабельним, оскільки потребує лише 4 стадії проміжного контролю, порівняно із 5 стадіями під час виготовлення в рідкому поживному середовищі.

У залежності від стадії та технології виробництва проводили

різні проміжні дослідження, що включали в себе мікроскопію, визначення типовості росту, визначення контамінації сторонньою бактеріальною та грибною мікрофлорою, визначення спороутворення, визначення концентрації колонієутворюючих одиниць.

3. Проміжні контролю якості під час виробництва пробіотику «Споро-лекс» на щільному поживному середовищі

Номер контролю	Показник	Референтне значення
Контроль 1	Мікроскопія	Типові паличкоподібні мікроорганізми
	КСБГМ	Вільний від контамінації
Контроль 2	Мікроскопія	Типові паличкоподібні мікроорганізми
	КСБГМ	Вільний від контамінації
	Спороутворення	$\geq 98\%$
	Концентрація КУО	$\geq 10^8$ КУО/гр
Контроль 3	Мікроскопія	Типові паличкоподібні мікроорганізми
	КСБГМ	Вільний від контамінації
	Спороутворення	$\geq 98\%$
	Концентрація КУО	$\geq 10^8$ КУО/гр
Контроль 4	Концентрація КУО	$\geq 2 \times 10^8$ КУО/гр

На всіх етапах під час проведення мікроскопії, спостерігали

типів для виробничих штамів паличкоподібні мікроорганізми,

Мачуський О. В.

сторонньої мікрофлори не виявлено. Контамінації сторонньою бактеріальною та грибною мікрофлорою, також не було виявлено. Спороутворення в рідкому поживному середовищі, в середньому, відбувалося на 24 години

довше, ніж за технології на щільному середовищі.

Також під час досліджень було сформовано та випробувано перелік показників контролю якості готового пробіотику «Споро-лекс» (Таблиця 4).

4. Показники контролю якості готового пробіотику «Споро-лекс»

Показник	Характеристика і референтне значення
Зовнішній вигляд	Порошок для перорального застосування від світло-коричневого до темно-коричневого кольору.
Наявність сторонніх домішок, плісняви	Не допускається
Визначення вологості препарату	3 - 5 %
Визначення маси продукту у одиниці пакування	Відхилення не більше ніж 3%
Контамінація сторонньою мікрофлорою, 1 грам	Не більше 50 КУО/г не патогенної мікрофлори
Типовість росту	Культурально-морфологічні та тинкторіальні властивості мікроорганізмів повинні бути типовими для виробничих мікроорганізмів
Кількість живих клітин, 1 грам	Загальне мікробне число не менше ніж 2×10^8 КУО/г
Нешкідливість	При введенні білим мишам в дозі $0,5 \text{ см}^3$ не повинен викликати їх загибелі протягом 14 діб

Контроль якості готового пробіотику «Споро-лекс», виготовленого за різними технологіями, проведений відповідно до запропонованих показників на п'яти послідовних серіях препарату (Таблиця 5 та Таблиця 6).

Зовнішній вигляд препаратів, виготовлених за обома технологіями, під час зберігання протягом 36 місяців не змінювався. Сторонніх домішок та плісняви не візуалізувалося.

Вологість пробіотику коливалася в межах 3,2-3,5% та була в межах норми, як наслідок коливань маси продукту теж не спостерігалось.

Контамінація продукту, за обох схем виготовлення, була в межах норми протягом 36 місяців і не перевищувала 50 КУО на 1 г продукту.

У всіх партіях пробіотику під час спостереження типовість росту виробничих штамів була адекватною, препарат був нешкідливим та не призводив до загибелі мишей.

Мачуський О. В.

5. Результати контролю якості готового продукту п'яти послідовних серій пробіотику «Споро-лекс», виготовленому в рідкому поживному середовищі протягом 36 місяців

Показник	Референтне значення	M0	M3	M6	M12	M18	M24	M30	M36
Зовнішній вигляд	Порошок від світло-коричневого до темно-коричневого кольору	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Наявність сторонніх домішок, плісняви	Не допускається	Відсутні	Відсутні	Відсутні	Відсутні	Відсутні	Відсутні	Відсутні	Відсутні
Визначення вологості препарату	3 – 5 %	3,2	3,3	3,3	3,2	3,2	3,2	3,2	3,2
Визначення маси продукту у одиниці пакування	Відхилення не більше ніж 3%	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Контамінація сторонньою мікрофлорою, 1 грам	≤ 50 КУО/г не патогенної мікрофлори	< 50 КУО/г	< 50 КУО/г	< 50 КУО/г	< 50 КУО/г	< 50 КУО/г	< 50 КУО/г	< 50 КУО/г	< 50 КУО/г
Типовість росту	Типові культурально-морфологічні та тинкторіальні властивості мікроорганізмів	Типові	Типові	Типові	Типові	Типові	Типові	Типові	Типові

Мачуський О. В.

Кількість живих клітин, 1 грам	$\geq 2 \times 10^8$ КУО/г	$2,21 \times 10^8$ КУО/г	$2,18 \times 10^8$ КУО/г	$2,15 \times 10^8$ КУО/г	$2,13 \times 10^8$ КУО/г	$2,13 \times 10^8$ КУО/г	$2,12 \times 10^8$ КУО/г	$2,12 \times 10^8$ КУО/г	$2,12 \times 10^8$ КУО/г
Нешкідливість	Не повинен викликати загибелі білих мишей протягом 14 діб	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає

М – місяць, число – кількість місяців від дати виробництва

6. Результати контролю якості готового продукту п'яти послідовних серій пробіотику «Споро-лекс», виготовленому на щільному поживному середовищі протягом 36 місяців

Показник	Референтне значення	М0	М3	М6	М12	М18	М24	М30	М36
Зовнішній вигляд	Порошок від світло-коричневого до темно-коричневого кольору	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Наявність сторонніх домішок, плісняви	Не допускається	Відсутні	Відсутні	Відсутні	Відсутні	Відсутні	Відсутні	Відсутні	Відсутні
Визначення вологості препарату	3 – 5 %	3,3	3,5	3,4	3,4	3,4	3,5	3,3	3,2
Визначення маси продукту у одиниці пакування	Відхилення не більше ніж 3%	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає

Мачуський О. В.

Контамінація сторонньою мікрофлорою, 1 грам	≤ 50 КУО/г не патогенної мікрофлори	< 50 КУО/г	< 50 КУО/г	< 50 КУО/г	< 50 КУО/г	< 50 КУО/г	< 50 КУО/г	< 50 КУО/г	< 50 КУО/г
Типовість росту	Типові культурально-морфологічні та тинкторіальні властивості мікроорганізмів	Типові	Типові	Типові	Типові	Типові	Типові	Типові	Типові
Кількість живих клітин, 1 грам	$\geq 2 \times 10^8$ КУО/г	$2,23 \times 10^8$ КУО/г	$2,22 \times 10^8$ КУО/г	$2,22 \times 10^8$ КУО/г	$2,22 \times 10^8$ КУО/г	$2,21 \times 10^8$ КУО/г	$2,21 \times 10^8$ КУО/г	$2,21 \times 10^8$ КУО/г	$2,20 \times 10^8$ КУО/г
Нешкідливість	Не повинен викликати загибелі білих мишей протягом 14 діб	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає

М – місяць, число – кількість місяців від дати виробництва

Кількість живих клітин в 1 г продукту варіювалася і залежала від технології виробництва. Під час зберігання протягом 36 місяців пробіотику «Споро-лекс», виготовленому в рідкому поживному середовищі, кількість живих клітин знизилася з $2,21 \times 10^8$ КУО/г до $2,12 \times 10^8$ КУО/г. У той час як серії пробіотику, виготовлені на щільному поживному середовищі мали не таке значне зменшення: від $2,23 \times 10^8$ КУО/г на початку зберігання, та $2,20 \times 10^8$ КУО/г через 36 місяців.

Таким чином, в результаті проведених досліджень, встановлено, що обидві технології виробництва пробіотику «Споро-лекс» забезпечували виробництво якісного продукту. При цьому більш рентабельною була технологія виробництва на щільному поживному середовищі, а також вона забезпечувала більшу стабільність препарату за показником «кількість живих клітин в 1 г» в процесі зберігання.

Висновки

У результаті проведених досліджень встановлено, що технологія виробництва пробіотику «Споро-лекс» на щільному

поживному середовищі є більш швидкою та рентабельною за рахунок меншої кількості контролів якості в процесі виробництва. Процес спороутворення під час виготовлення пробіотику «Споро-лекс» на щільному поживному середовищі відбувався швидше на 24 години у порівнянні з технологією виробництва у рідкому поживному середовищі. Технологія виготовлення пробіотику на щільному поживному середовищі забезпечувала формування більш зрілої спори, що призводило до стабільності препарату під час зберігання за показником «кількість живих клітин в 1 г продукту». За рештою показників якості, обидві технології однаково забезпечували стабільність продукту в процесі зберігання протягом 36 місяців.

Перспективи досліджень

Подальші дослідження мають бути спрямовані на пошук більш дешевих компонентів поживних середовищ для нарощування біомаси виробничих штамів. Необхідним є подальше вивчення стабільності пробіотику «Споро-лекс», а також вивчення його безпечності та ефективності у виробничих умовах.

References

1. Riviere J. E., Boothe D. M., Czarnecki-Maulden G. L., Dzanis D. A., Harris P. A., Hendriks W. H., Kirk W. H., Warren L. K. Safety of Dietary Supplements for Horses,

Dogs, and Cats. Washington DC: The National Academies Press; 2009. 513.

2. Cho S. S., Finocchiaro E. T. Handbook of Prebiotics and Probiotics Ingredients. Health Benefits and Food

Applications. Boca Raton: CRC Press; 2010. 455.

3. Salem A. F. Z. M. Nutritional Strategies of Animal Feed Additives. New York: Nova Science Publishers; 2013. 231.

4. Gupta R. C., Srivastava A., Lall R. Nutraceuticals in Veterinary Medicine. Cham, Switzerland: Springer; 2019. 852.

5. Nivoliez A., Camares O., Paquet-Gachinat M., Bornes S., Forestier C., Veisseire P. Influence of manufacturing processes on in vitro properties of the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* Lcr35. *Journal of Biotechnology*. 2012; 160: 236-241.

6. Mortazavian A. M., Khorshidian N., Gomes da Cruz A. In Vitro Functionality of Probiotics in Foods. New York: Nova Science Publishers; 2022. 390.

7. Grzeskowiak Ł., Endo A., Collado M.C., Pelliniemi L.J., Beasley S., Salminen S.

The effect of growth media and physical treatments on the adhesion properties of canine probiotics. *Journal of Applied Microbiology*. 2013; 115: 539-545.

8. Gioia D. D., Biavati B., Probiotics and Prebiotics in Animal Health and Food Safety. Cham, Switzerland: Springer; 2018. 275.

9. Drumet L., Tromp Y., Stiegelbauer V. The Development of High-Quality Multispecies Probiotic Formulations: From Bench to Market. *Nutrients*. 2020; 12: 1-19.

10. Charalampopoulos D., Rastall R. A. Prebiotics and Probiotics Science and Technology. New York: Springer; 2009. 1273.

11. Sola-Oladokun B., Culligan E.P., Sleator R.D. Engineered Probiotics: Applications and Biological Containment. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 2017; 8:16.1–16.18.

TECHNOLOGY DEVELOPMENT OF PROBIOTIC “SPORO-LEKS” MANUFACTURING

O. V. Machusky

Abstract. *An important element of the probiotics quality is the technology of their production. There is great variability between the results of preclinical and clinical trials of probiotic microorganisms. To a large extent, this is influenced by the technology and conditions of production of probiotics.*

*The purpose of the work was to compare the manufacturing technologies of “Sporo-leks” probiotic. Probiotic “Sporo-leks” is a mixture of probiotic cultures of *Bacillus licheniformis* VK-25 and *Bacillus subtilis* MK-3, sorbed on a complex activated with the addition of a natural standardized sorbent. Two versions of the “Sporo-leks” probiotic manufacturing technologies were developed: in a liquid nutrient medium and on a dense nutrient medium. During the tests, intermediate quality controls were developed.*

As a result of the conducted research, lists of intermediate quality controls were formed during the production of the probiotic “Sporo-leks” in a liquid nutrient medium and on a dense nutrient medium. Dense nutrient media manufacturing has been found to be faster and more cost-effective as it requires only 4 intermediate control stages compared to 5 stages in liquid nutrient media manufacturing. Depending on the stage and production technology, various intermediate studies were carried out, which included microscopy, determination of typicality of growth, determination of contamination by foreign bacterial and fungal microflora, determination of sporulation, determination of the concentration of colony-forming units. Also, during the research, a list of quality control indicators of the finished probiotic “Sporo-leks”

was formed and tested. It has been proven that the process of sporulation during the production of the probiotic "Sporo-leks" on a dense nutrient medium occurred faster by 24 hours compared to the technology of production in a liquid nutrient medium. Probiotic production technology on a dense nutrient medium ensured the formation of a more mature spore, which led to the stability of the drug during storage according to the indicator "the number of living cells in 1 g of product." According to the rest of the quality indicators, both technologies equally ensured the stability of the product during storage for 36 months.

Key words: *probiotic, production technology, stability, quality control*