

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
МИКОЛАЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ФАКУЛЬТЕТ ТВПШТСБ

Кафедра біотехнології та біоінженерії
Спеціальність 162 — «Біотехнології та біоінженерія»
Ступінь вищої освіти «Магістр»

«Допустити до захисту»

Декан _____ Михайло ГИЛЬ

“ _____ ” _____ 2025р.

«Рекомендувати до захисту»

В.о. зав. кафедри _____ Олена КАРАТЄЄВА

“ _____ ” _____ 2025р.

ОЦІНКА РІЗНИХ ШТАМІВ *LACTOBACILLUS CASEI* ТА ЇХ
ФЕРМЕНТАЦІЙНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

04.02. – КР. 105-О. 25 07 22. 010

Виконавець:

студентка II курсу _____ Раїса ЧАЙКА

Науковий керівник:

доцентка _____ Олена КАРАТЄЄВА

Рецензент:

доцентка _____ Олена ЮЛЕВИЧ

ЗМІСТ

РЕФЕРАТ	3
ВСТУП	4
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	8
1.1. Сучасний стан молочної промисловості України	8
1.2. Філогенетика та філогенетичний аналіз як метод дослідження	13
1.3. Біологічна роль і значення бактерій роду <i>Lactobacillus</i>	17
1.4. Комплексна характеристика штаму <i>Lactobacillus casei</i>	21
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ, УМОВИ І МЕТОДИКА ВИКОНАННЯ РОБОТИ	27
2.1. Місце та об'єкт досліджень	27
2.2. Методика виконання роботи	32
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ	35
3.1. Ідентифікація та класифікація штамів групи <i>Lactobacillus casei</i>	35
3.2. Філогенетичний аналіз штамів групи <i>Lactobacillus casei</i>	40
3.3. Морфологічна та мікробіологічна характеристика штамів групи <i>Lactobacillus casei</i>	45
3.4. Ферментаційні властивості різних штамів <i>Lactobacillus casei</i>	53
3.5. Економічна частина	61
РОЗДІЛ 4. ОХОРОНА ПРАЦІ	64
РОЗДІЛ 5. БЕЗПЕКА В НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЯХ	67
РОЗДІЛ 6. ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ	70
ВИСНОВКИ	75
ПРОПОЗИЦІЇ	78
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	79
ДОДАТОК А	88

РЕФЕРАТ

Кваліфікаційну роботу виконано на сторінках друкованого тексту, з використанням бібліографічних джерел спеціальної, додаткової літератури та періодичних видань із них латиницею. Також магістерська робота має вступ, 6 розділів, 11 таблиць, 15 рисунків, висновки, пропозиції та список використаних джерел.

Тема кваліфікаційної роботи: «Оцінка різних штамів *Lactobacillus casei* та їх ферментаційні характеристики».

Мета досліджень – оцінити біотехнологічні властивості різних штамів групи *Lactobacillus casei*.

Об'єкт досліджень – кластерний аналіз штамів групи *Lactobacillus casei*.

Предмет досліджень – штамova варіабельності *Lactobacillus casei* та їх ферментаційні властивості.

Для виконання мети були поставлені наступні завдання:

- Здійснити ідентифікацію та надати класифікацію штамів групи *Lactobacillus casei*;
- Провести філогенетичний аналіз кластерів штамів групи *Lactobacillus casei*;
- Надати морфологічну та мікробіологічну характеристику штамів групи *Lactobacillus casei*;
- Охарактеризувати ферментаційні властивості штамів групи *Lactobacillus casei*;
- Надати економічний аналіз проведених досліджень.

Методи дослідження – використано філогенетичні, мікробіологічні, фізико-хімічні, біохімічні та статистичні методи для комплексної оцінки різних штамів *Lactobacillus casei*.

Результати роботи апробовані на VII International Scientific and Theoretical Conference Scientific Method: Reality and Future Trends of Researching та опубліковані в закордонному виданні **Chaika R.** Fermentation properties of different strains of *Lactobacillus casei*. **Scientific method: reality and future trends of researching:** Collection of Scientific Papers «SCIENTIA» with Proceedings of the VII International Scientific and Theoretical Conference, December 5, 2025. Montreal, Canada: International Center of Scientific Research <https://doi.org/10.36074/scientia-05.12.2025> (додаток А).

ВСТУП

В останні десятиліття відбулася глобальна трансформація ставлення споживачів до їжі, що супроводжується зростанням усвідомлення взаємозв'язку між харчуванням та здоров'ям. В результаті харчова промисловість змістила свою увагу на виробництво функціональних харчових продуктів – продуктів, які, окрім забезпечення необхідними поживними речовинами, мають корисний фізіологічний вплив на організм людини. До них належать продукти, збагачені вітамінами, мінералами, харчовими волокнами та, зокрема, пробіотичними мікроорганізмами. Функціональні продукти зараз розглядаються як перспективна стратегія профілактики захворювань, зміцнення здоров'я та покращення якості життя, що стимулювало науковий та промисловий інтерес до їх досліджень та розробок [38].

Серед різних категорій функціональних продуктів ферментовані молочні продукти займають провідне місце. Вони визнані ефективними засобами доставки пробіотиків до шлунково-кишкового тракту людини завдяки своєму відповідному поживному складу, буферній здатності та прийняттю споживачами. Йогурт, зокрема, виділяється як один з найпопулярніших ферментованих молочних продуктів у світі, цінується за свою харчову цінність, смакові якості та засвоюваність. Збагачення йогурту пробіотичними бактеріями перетворює його зі звичайного ферментованого продукту на функціональний харчовий продукт з цільовою користю для здоров'я [2].

Пробіотики, визначені Всесвітньою організацією охорони здоров'я як живі мікроорганізми, які при введенні в адекватних кількостях надають користь здоров'ю хазяїна, покращують склад та активність кишкової мікробіоти. Вони допомагають підтримувати баланс між корисними та потенційно шкідливими мікроорганізмами, покращують функцію кишкового бар'єра та стимулюють імунну систему хазяїна. Крім того, пробіотики

відіграють вирішальну роль у синтезі вітамінів та біологічно активних сполук, а також у зниженні рівня холестерину та детоксикації шкідливих речовин. Отже, регулярне споживання продуктів, багатих на пробіотики, пов'язане з профілактикою шлунково-кишкових розладів, алергічних реакцій та навіть метаболічних синдромів [11].

Серед широкого спектру пробіотичних бактерій особливе значення має рід *Lactobacillus*. Представники цього роду широко використовуються у ферментації молочних, рослинних та м'ясних продуктів і відомі своєю технологічною гнучкістю, кислотостійкістю та корисними для здоров'я властивостями. Вони сприяють виробленню молочної кислоти, перекису водню та бактеріоцинів, які пригнічують ріст патогенних мікроорганізмів, тим самим забезпечуючи безпеку продукту та подовжуючи термін придатності. Крім того, види *Lactobacillus* беруть участь у формуванні бажаних сенсорних характеристик, таких як однорідна текстура, приємний аромат та освіжаючий смак – це ознаки, які безпосередньо впливають на сприйняття споживачами продукту [33].

Серед видів *Lactobacillus*, *Lactobacillus casei* має особливе значення завдяки своєму пробіотичному потенціалу та адаптивності до широкого спектру умов навколишнього середовища. Цей мікроорганізм здатний виживати при проходженні через шлунково-кишковий тракт, прикріплюватися до епітеліальних клітин та надавати антимікробну та імуномодуючу дію. З технологічної точки зору, *L. casei* демонструє ефективну ферментаційну активність, помірне підкислення та сумісність з іншими молочнокислими бактеріями, що використовуються у виробництві йогурту. Ці властивості роблять його ідеальним кандидатом для створення високоякісних пробіотичних йогуртів зі стабільними фізичними та сенсорними характеристиками [37].

Однак не всі штами *L. casei* демонструють однакову поведінку під час ферментації. Вибір штаму з відповідними технологічними та пробіотичними властивостями є вирішальним фактором у визначенні якості кінцевого

продукту. Критичні параметри, такі як кислотність, в'язкість та стабільність, залежать від метаболічної активності обраного штаму. Крім того, на органолептичні властивості – смак, аромат і текстуру – впливає синтез летких сполук, екзополісахаридів та білків, які модифікують мікроструктуру йогурту. Тому процес відбору штамів вимагає комплексної оцінки, що поєднує мікробіологічний, біохімічний та сенсорний аналізи [40].

У цьому контексті вивчення штамів *Lactobacillus casei* та їхнього впливу на якість йогурту має як теоретичне, так і практичне значення. Розуміння взаємозв'язку між бактеріальним метаболізмом та характеристиками продукту дозволяє оптимізувати умови ферментації та розробляти стабільні, привабливі для споживача пробіотичні продукти. Більше того, такі дослідження сприяють розробці нових заквасок, адаптованих до конкретних технологічних вимог та потреб ринку [60].

Для України, де молочна промисловість є значним сегментом харчового сектору, впровадження функціональних та пробіотичних продуктів є особливо актуальним. Поєднання національних харчових стандартів з міжнародними системами якості заохочує вітчизняні підприємства до інновацій у сфері ферментованих молочних продуктів. Вибір та застосування місцево адаптованих пробіотичних штамів, таких як *Lactobacillus casei*, не лише покращує якість продукції, але й зміцнює конкурентоспроможність українських виробників молочної продукції як на внутрішньому, так і на експортному ринках [66].

Тому це дослідження присвячено кластерному аналізу та оцінці різних штамів *Lactobacillus casei* і їх ферментаційних характеристик. Метою дослідження є оцінити біотехнологічні властивості різних штамів групи *Lactobacillus casei* які забезпечують оптимальні ферментаційні властивості, зберігаючи при цьому сприятливі сенсорні характеристики. Очікується, що отримані результати поглиблять розуміння функціональності пробіотиків у молочних системах та забезпечать наукову основу для розробки покращених

пробіотичних йогуртів, які відповідають як технологічним, так і споживчим очікуванням [60].

Зрештою, ця робота позитивно впливає на розвиток біотехнологічних підходів у молочній промисловості, сприяючи створенню збагачених поживними речовинами, мікробіологічно безпечних та привабливих для споживачів функціональних продуктів.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Сучасний стан молочної промисловості України

Молочна промисловість займає стратегічно важливе місце в національному агропромисловому комплексі України, відіграючи життєво важливу роль у забезпеченні продовольчої безпеки країни, стабільності харчування та економічної стійкості. Молоко та молочні продукти є важливими компонентами українського раціону, забезпечуючи цінне джерело білків, жирів, вітамінів та мінералів, необхідних для здоров'я людини. Розвиток цього сектору безпосередньо впливає на зайнятість у сільській місцевості, регіональне економічне зростання та загальну конкурентоспроможність національної харчової промисловості. За даними сайту *milku.info*, а також наданою інформацією Державної служби статистики України і Асоціації виробників молока за 2024 рік, можна спостерігати такий розподіл поголів'я корів та обсяги надоїв молока [60], який зазначений на рис. 1.

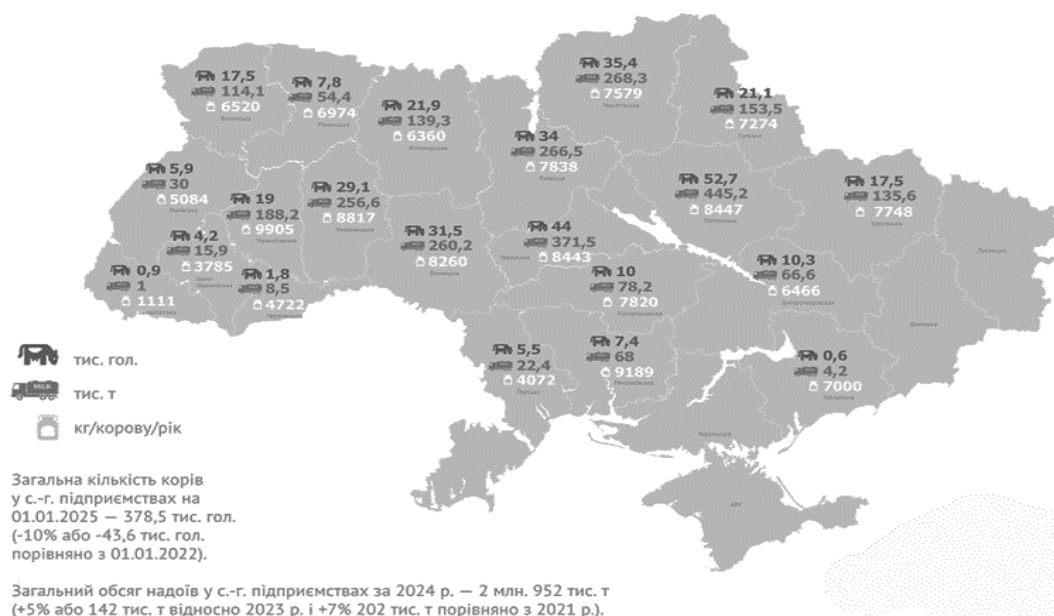


Рис. 1. Поголів'я корів, продуктивність і обсяги виробництва молока-сировини на МТФ за підсумками 2024 року

Із представленої інфографіки видно, що в молочному господарстві України спостерігається тенденція до скорочення поголів'я корів, однак зростає загальний обсяг виробництва молока. Це свідчить про підвищення продуктивності тварин і впровадження сучасних технологій утримання та годівлі. Найвищі показники надоїв характерні для центральних і північних областей (Полтавська, Вінницька, Черкаська), тоді як у південних регіонах обсяги виробництва залишаються низькими через менш сприятливі кліматичні умови та скорочення поголів'я [60].

Молочна промисловість країни охоплює широку мережу підприємств, що спеціалізуються на зборі, переробці молока та виробництві продукції. Серед найбільших та найтехнологічніших підприємств – «Лакталіс-Україна», «Данон-Україна», Яготинський маслозавод тощо. Ці компанії займаються виробництвом широкого асортименту продукції, включаючи питне молоко, масло, сир, йогурт, сметану та інші ферментовані молочні продукти. Їхня діяльність характеризується зростанням автоматизації, впровадженням систем управління якістю та поступовим переходом до міжнародних стандартів безпеки харчових продуктів [60]. Візуалізувати результати можна за допомогою діаграми на рис. 2.

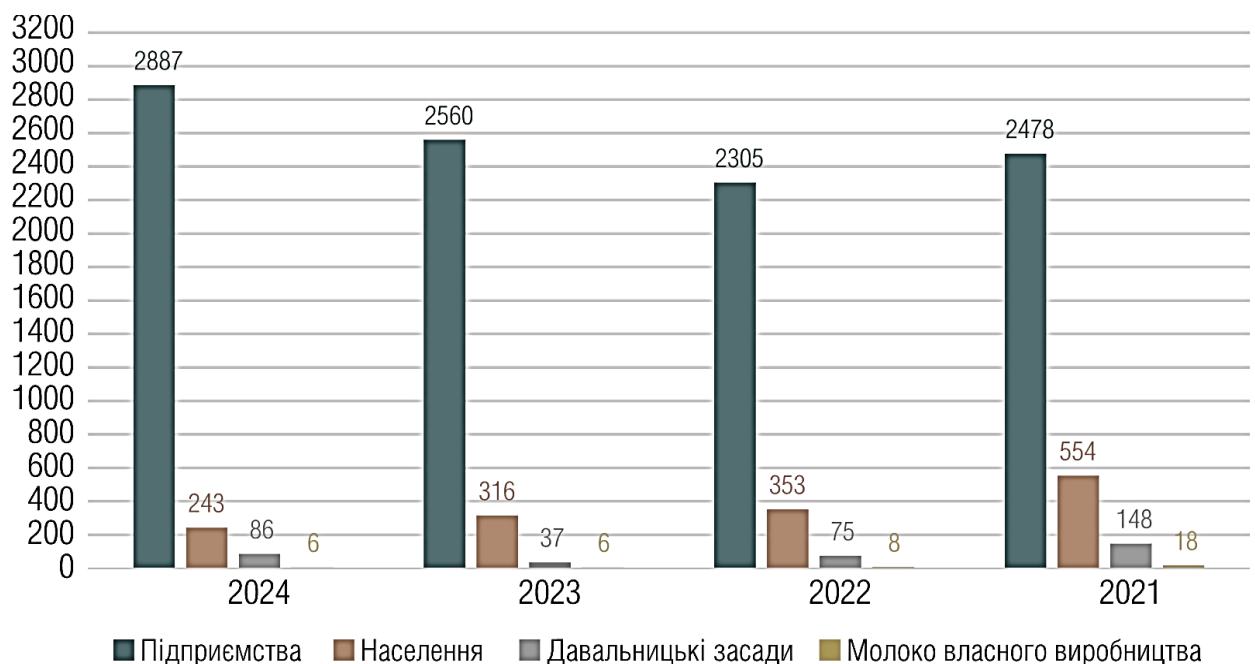


Рис. 2. Динаміка надходження молока-сировини на переробні підприємства, тис. т

Технологічні особливості переробки молока на українських підприємствах значною мірою відповідають світовим тенденціям. Сучасні молочні заводи використовують автоматизовані виробничі лінії, системи стандартизації сирого молока, установки пастеризації та гомогенізації, а також обладнання для ферментації, адаптоване до конкретних культур та видів продукції. Однак, незважаючи на прогрес, галузь продовжує стикатися з проблемами, пов'язаними з якістю сировини [67]. Сучасні проблеми можна узагальнити, як це продемонстровано у таблиці 1.

Таблиця 1

Класифікація основних проблем у виробництві молока

Категорія проблеми	Сутність проблеми	Можливі наслідки
Генетична	Скорочення локальних порід	Втрата біорізноманіття
Годівля	Незбалансовані раціони, низька якість кормів	Зниження продуктивності
Репродуктивна	Довгий сервіс-період, ендометрити	Зменшення темпів відтворення
Економічна	Висока собівартість, нестача кадрів	Збитковість галузі
Продуктова	Низький вміст білка, погана якість молока	Зниження конкурентоспроможності

Молочне скотарство України в даний час стикається з низкою системних проблем, серед яких скорочення чисельності вітчизняних комбінованих і молочних порід, зниження продуктивності через нераціональну годівлю та незбалансовані раціони, а також погіршення якості кормової бази. Значний вплив мають порушення у сфері відтворення поголів'я – подовжений сервіс-період, ускладнені отелення, зростання випадків ендометритів і маститів. Додатковими факторами є застарілі технології утримання, тепловий стрес у літній період, нестача кваліфікованих кадрів, а також висока собівартість виробництва. Це, у свою чергу,

призводить до зниження якості молока, зменшення вмісту білка та загальної збитковості галузі [67].

Впровадження суворих санітарно-гігієнічних вимог на всіх етапах виробництва – від доїння та транспортування до переробки та упаковки – залишається пріоритетом для забезпечення дотримання як національних, так і міжнародних стандартів якості [58].

Процес європейської інтеграції мав глибокий вплив на модернізацію молочного сектору України. Відповідність стандартам ЄС щодо безпеки та якості харчових продуктів, зокрема тим, що викладені в системі HACCP (аналіз небезпек та критичних контрольних точок) та ISO 22000, стимулювала підприємства до впровадження суворіших процедур контролю, покращення відстеження та впровадження лабораторного моніторингу мікробіологічних та фізико-хімічних показників. Ці реформи не лише підвищують безпеку продукції та довіру споживачів, але й розширюють експортні можливості для українських виробників молочної продукції на європейські та світові ринки [45].

Нещодавні ринкові тенденції демонструють динамічний зсув у поведінці споживачів у бік здоровіших та різноманітніших варіантів молочних продуктів. Сегмент ферментованих молочних продуктів, включаючи кефір, ряжанку та особливо йогурт, демонструє стабільне зростання, зумовлене підвищенням обізнаності споживачів про харчову та пробіотичну цінність цих продуктів. У цій категорії попит на функціональні та пробіотичні йогурти неухильно зростає. Споживачі стають більш свідомими щодо свого здоров'я, віддаючи перевагу продуктам, що підтримують здоров'я травлення, імунітет та метаболічний баланс. Цей зростаючий інтерес спонукав вітчизняних виробників розширювати свої продуктові лінійки йогуртами, що містять живі пробіотичні культури, такі як *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* та *Bifidobacterium bifidum* [40].

Значний внесок у розвиток ринку молочної продукції в Україні зробило ПрАТ «Лакталіс-Миколаїв», одне з ключових підприємств міжнародної

групи Lactalis. Компанія давно визнана лідером у виробництві високоякісних ферментованих молочних продуктів під відомими брендами, такими як «President», «Lactel» тощо. Виробничі потужності «Лакталіс-Миколаїв» оснащені сучасним європейським обладнанням, яке дозволяє точно контролювати параметри ферментації, забезпечуючи стабільність та безпеку кожної партії продукції. Компанія постійно інвестує в модернізацію та впроваджує міжнародні стандарти безпеки та управління якістю харчових продуктів, включаючи системи ISO та HACCP [68].

Йогурти, що виробляються на «Лакталіс-Миколаїв», вирізняються високою якістю, харчовою цінністю та різноманітністю рецептур. Підприємство пропонує як традиційні, так і пробіотичні лінійки йогуртів, збагачені культурами видів *Lactobacillus casei* та *Bifidobacterium*, які відомі своїм корисним впливом на шлунково-кишкову систему людини. Ці продукти користуються широкою популярністю серед українських споживачів завдяки своєму м'якому смаку, ніжній текстурі та доведеній користі для здоров'я. Крім того, «Лакталіс-Миколаїв» активно впроваджує інновації в розробці продуктів, впроваджуючи нові смаки, рецепти зі зниженим вмістом цукру та функціональні різновиди, збагачені вітамінами, пребіотиками та натуральними фруктовими інгредієнтами [68].

Таким чином, українська молочна промисловість перебуває на стадії активної трансформації та інновацій. Хоча вона стикається з постійними проблемами, пов'язаними з якістю сировини та технологічною модернізацією, вона продовжує рухатися до підвищення ефективності, диверсифікації продукції та міжнародної конкурентоспроможності. Розробка пробіотичних молочних продуктів, зокрема йогуртів, збагачених корисними мікроорганізмами, є одним із найперспективніших напрямків майбутнього зростання. Ця тенденція здатна зміцнити позиції України на міжнародному ринку молочної продукції [44].

1.2. Філогенетика та філогенетичний аналіз як метод дослідження

У біології філогенетика – це вивчення еволюційної історії життя з використанням спостережуваних характеристик організмів (або генів), яке відоме як філогенетичний висновок. Він робить висновки про зв'язки між організмами на основі емпіричних даних та спостережуваних спадкових ознак послідовностей ДНК, амінокислотних послідовностей білків та морфології. Результатом є філогенетичне дерево – діаграма, що зображує гіпотетичні зв'язки між організмами, що відображають їхню передбачувану еволюційну історію [41].

Верхівки філогенетичного дерева представляють спостережувані сутності, які можуть бути живими таксонами або скам'янілостями. Філогенетична діаграма може бути кореневою або некореневою. Діаграма кореневого дерева вказує на гіпотетичного спільного предка таксонів, представлених на дереві. Некоренева діаграма дерева (мережа) не робить припущень щодо спрямованості трансформації стану ознак і не показує походження або «корінь» досліджуваних таксонів [27].

Окрім використання філогенетичних закономірностей серед таксонів, філогенетичний аналіз часто застосовується для представлення взаємозв'язків між генами або окремими організмами. Таке використання стало центральним для розуміння біорізноманіття, еволюції, екології та геномів [27].

Філогенетика – це компонент систематики, який використовує подібності та відмінності характеристик видів для інтерпретації їхніх еволюційних зв'язків та походження [41].

У філогенетичному аналізі вибірка таксонів вибирає невелику групу екземплярних таксонів для визначення еволюційної історії клади. Цей процес також відомий як стратифікована вибірка або вибірка на основі клад. Розумна вибірка таксонів є важливою, враховуючи обмежені ресурси для порівняння та аналізу кожного виду в межах різноманітної клад, а також

враховуючи обчислювальні обмеження філогенетичного програмного забезпечення. Неякісна вибірка таксонів може призвести до неправильних філогенетичних висновків. Притягання довгих гілок, при якому неспоріднені гілки неправильно групуються спільними гомопластичними нуклеотидними сайтами, є теоретичною причиною неточності [30].

Точаться дискусії щодо того, чи збільшення кількості вибірових таксонів покращує філогенетичну точність більше, ніж збільшення кількості вибірових генів на таксон. Відмінності у вибірці кожного методу впливають на кількість нуклеотидних сайтів, що використовуються у вирівнюванні послідовностей, що може сприяти розбіжностям. Наприклад, філогенетичні дерева, побудовані з використанням більшої кількості загальних нуклеотидів, зазвичай є точнішими, що підтверджується бутстрепінговою відтворюваністю філогенетичних дерев з випадкової вибірки [30].

Одним із застосувань філогенетичного аналізу є фармакологічне дослідження близькоспоріднених груп організмів. Досягнення в кладистичному аналізі завдяки швидшим комп'ютерним програмам та вдосконаленим молекулярним методам підвищили точність філогенетичного визначення, що дозволило ідентифікувати види з фармакологічним потенціалом [39].

Історично філогенетичний скринінг для фармакологічних цілей використовувався простим чином, наприклад, для вивчення родини рослин *Aprocynaceae*, яка включає види, що продукують алкалоїди, такі як *Catharanthus*, відомий тим, що продукує вінкристин, протилейкемічний препарат. Сучасні методи дозволяють дослідникам вивчати близьких родичів виду, щоб виявити або більшу кількість важливих біологічно активних сполук, або природні варіанти відомих фармацевтичних препаратів (наприклад, види *Catharanthus* для різних форм вінкристину або вінбластину) [39].

У галузі дослідження раку філогенетика може бути використана для вивчення клональної еволюції пухлин та молекулярної хронології,

прогнозування та показу того, як клітинні популяції змінюються протягом розвитку захворювання та під час лікування, використовуючи методи секвенування всього геному. Оскільки ракові клітини розмножуються мітотично, еволюційні процеси, що лежать в основі прогресування раку, досить відрізняються від процесів у видів, що розмножуються статевим шляхом. Ці відмінності проявляються в кількох областях: типи аберацій, що виникають, швидкість мутацій, висока гетерогенність (мінливість) субклонів пухлинних клітин та відсутність генетичної рекомбінації [6].

Філогенетика також може допомогти в розробці та відкритті ліків. Філогенетика дозволяє вченим систематизувати види та показати, які види, ймовірно, успадкували певні ознаки, корисні з медичної точки зору, такі як виробництво біологічно активних сполук – тих, що впливають на організм людини. Наприклад, у розробці ліків особливо корисні тварини, що виробляють отрути. З отрут цих тварин виробляють кілька важливих препаратів, наприклад, інгібітори АПФ та Пріалт (зиконотид). Щоб знайти нові отрути, вчені звертаються до філогенетики для скринінгу близькоспоріднених видів, які можуть мати ті ж корисні ознаки [39].

У криміналістиці філогенетичні інструменти корисні для оцінки доказів ДНК у судових справах. Філогенетичний аналіз використовувався в кримінальних процесах для виправдання або утримання осіб під вартою [14].

Криміналістика ВІЛ використовує філогенетичний аналіз для відстеження відмінностей у генах ВІЛ та визначення спорідненості двох зразків. Криміналістика ВІЛ має обмеження, тобто вона не може бути єдиним доказом передачі між людьми, а філогенетичний аналіз, який показує спорідненість передачі, не вказує на напрямок передачі [14].

Філогенетичний аналіз також застосовувався до досліджень видового біорізноманіття. Філогенетичний аналіз допомагає зрозуміти еволюційну історію різних груп організмів, виявити зв'язки між різними видами та передбачити майбутні еволюційні зміни. Новітні системи візуалізації та нові методи аналізу дозволяють виявляти більше генетичних зв'язків у галузях

біорізноманіття, що може допомогти в зусиллях з охорони природи шляхом виявлення рідкісних видів, які можуть принести користь екосистемам у всьому світі[41].

На рисунку 3 представлено філогенетичне дерево життя у круговому форматі, яке демонструє еволюційні взаємозв'язки між основними групами живих організмів. Таке дерево зазвичай будують на основі порівняння генетичних послідовностей, переважно генів рРНК або великих наборів консервативних генів, що дозволяє простежити походження та ступінь спорідненості між різними лініями життя. У цьому варіанті дерево подано у вигляді кола, де від центрального стовбура розходяться великі еволюційні гілки, які поступово розгалужуються на дрібніші кластери видів [5].

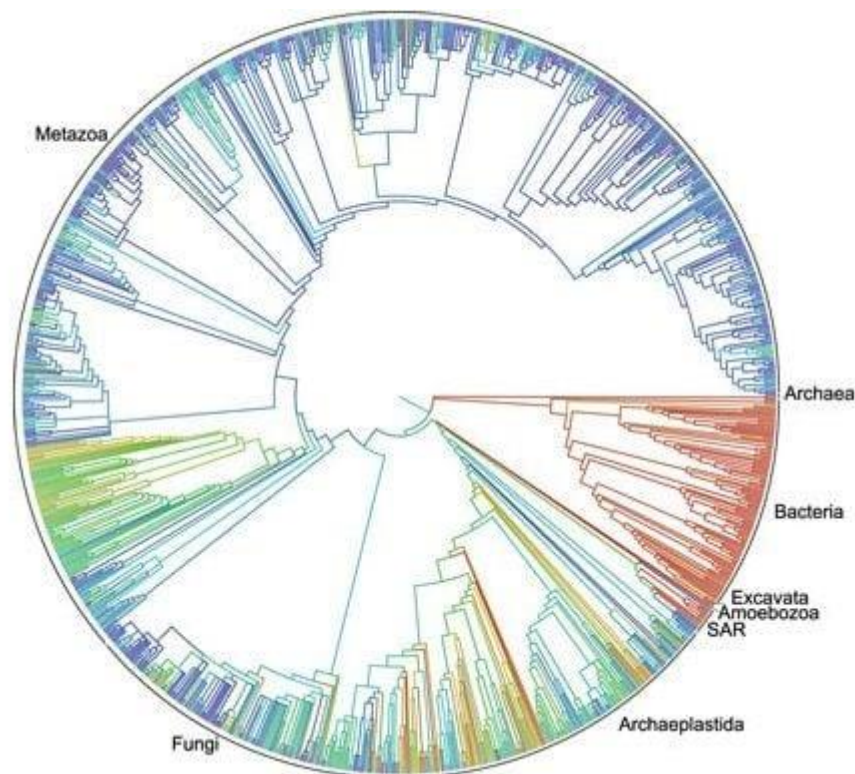


Рис. 3. Філогенетичне дерево життя основних груп організмів

Таким чином, можна стверджувати, що філогенетика є дослідницьким методом, що дозволяє відновити еволюційні зв'язки між організмами на основі порівняння їхніх генетичних, молекулярних чи морфологічних ознак. Вона дає змогу встановити ступінь спорідненості між видами та простежити їхнє еволюційне походження, формуючи філогенетичні дерева як модель цих

зв'язків. Завдяки цьому методу можна більш точно класифікувати організми та зрозуміти закономірності їхньої еволюції.

1.3. Біологічна роль і значення бактерій роду *Lactobacillus*

Морфологічно лактобактерії характеризуються як грампозитивні палички, довжина яких варіюється від коротких до видовжених. Вони зазвичай тонкі та можуть мати злегка вигнуту або коринформну (булавоподібну) форму. Ці бактерії нерухомі та не утворюють спор. Залежно від виду, лактобактерії можуть зустрічатися поодинокі, парами або короткими чи довгими ланцюжками. Лактобактерії метаболізують вуглеводи для утворення молочної кислоти, що робить їх найбільшим родом у групі молочнокислих бактерій (МКБ). Станом на березень 2020 року 261 вид *Lactobacillaceae* було перекласифіковано до 25 родів (включаючи 23 нові роди) через їх надзвичайно високу генотипову, фенотипову та екологічну різноманітність [1].

Фізіологічно більшість лактобактерій є факультативними анаеробами, тобто вони можуть рости як за наявності, так і за відсутності кисню, хоча близько 20% видів, пов'язаних з людиною, є облігатними анаеробами. Вони каталазо-негативні, що означає, що вони не утворюють бульбашок під час впливу перекису водню. На основі їхніх шляхів ферментації їх поділяють на дві основні групи: гомоферментативні види, які виробляють переважно молочну кислоту як кінцевий продукт ферментації глюкози (наприклад, *Lactobacillus acidophilus* та *L. casei*), та гетероферментативні види, які виробляють молочну кислоту разом з оцтовою кислотою, етанолом та вуглекислим газом (наприклад, *L. fermentum* та *L. brevis*). Оптимальна температура росту для більшості видів коливається від 30°C до 40°C, з оптимумом близько 37°C, що відповідає температурі тіла. Лактобактерії також є кислотостійкими та можуть рости в середовищах з рН до 4,0, хоча

оптимальний діапазон рН становить від 5,5 до 6,2. Основним кінцевим продуктом метаболізму ферментації глюкози є молочна кислота, але також може утворюватися невелика кількість оцтової та бурштинової кислот. Вміст гуанін-цитозину (ГЦ) в їхній ДНК варіюється від 32 до 53 мол.%, що відображає їх генетичну різноманітність [16].

Традиційно види *Lactobacillus* можна розділити на три групи на основі їхнього метаболізму. Облігатна гомоферментативна група, яка ферментує вуглеводи з утворенням молочної кислоти як основного побічного продукту (наприклад, *L. acidophilus* та *L. salivarius*), факультативно гетероферментативна група, яка за певних умов або з певними субстратами ферментує вуглеводи з утворенням молочної кислоти, етанолу/оцтової кислоти та вуглекислого газу як побічних продуктів (наприклад, *L. casei* та *L. plantarum*), та облігатно гетероферментативна група, яка завжди ферментує вуглеводи з утворенням молочної кислоти, етанолу/оцтової кислоти та вуглекислого газу як побічних продуктів (наприклад, *L. reuteri* та *L. fermentum*) [31].

Лактобактерії колонізували численні ділянки людського тіла, зокрема травний тракт, включаючи ротову порожнину, та жіночі статеві шляхи. Зв'язок між лактобактеріями та людьми є мутуалістичним, причому види *Lactobacillus* пропонують хазяїну допомогу в перетравленні певних харчових субстратів, а також захист від патогенів в обмін на акомодацию та поживні речовини. Види *Lactobacillus* мають якості, які є комерційно бажаними як харчові добавки, так і інструменти в секторі харчових технологій. Основне застосування лактобактерій полягає у виробництві ферментованих молочних, м'ясних або овочевих продуктів та хліба на заквасці, а також вони широко використовуються як пробіотики, тобто живі мікроорганізми, які при введенні в адекватних кількостях надають користь для здоров'я хазяїна. Лактобактерії отримали статус «загальновизнаних як безпечні» (GRAS) від Управління з контролю за продуктами і ліками США (USFDA) та статус «кваліфікованої презумпції безпеки» (QPS) від Європейського агентства з

безпеки харчових продуктів (EFSA), що робить їх використання у виробництві харчових продуктів відносно простим. Завдяки своєму економічному значенню, лактобактерії добре вивчені та, порівняно з іншими родами бактерій, добре охарактеризовані з точки зору геноміки, а також їхньої взаємодії з людьми з точки зору як здоров'я, так і захворювань. Ці особливості роблять види *Lactobacillus* ідеальними кандидатами на пробіотики [36].

Щоб вважатися ефективним, пробіотик повинен мати здатність виживати в шлунково-кишковому тракті (ШКТ), бути стійким до низького рН шлунка, не мати генів стійкості до антибіотиків і забезпечувати явну користь для хазяїна. З усіх пробіотиків види *Lactobacillus* є найбільш широко використовуваними та вивченими. Основні пробіотичні види *Lactobacillus* включають: *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, *L. delbrueckii subsp. lactis*, *L. fermentum*, *L. gasseri*, *L. helveticus*, *L. johnsonii*, *L. paracasei subsp. paracasei*, *L. plantarum*, *L. reuteri* та *L. rhamnosus* [15]. Існує багато досліджень потенційної користі для здоров'я від видів *Lactobacillus*, хоча дані свідчать про те, що багато особливостей цих пробіотичних бактерій залежать як від виду, так і від штаму. Незважаючи на це, було відзначено, що один вид пробіотиків може демонструвати покращення у різних когортах пацієнтів, наприклад, *L. rhamnosus* GG, а також, що ряд різних пробіотиків або їх комбінацій можуть демонструвати ефективність при одному й тому ж стані, наприклад, інфекції *C. difficile*, що свідчить про наявність збережених корисних властивостей. Як і у випадку з багатьма трансляційними терапіями, ефективність не завжди підтримується від спостережень *in vitro* через доклінічні та клінічні дослідження з багатьох причин [35].

На жаль, для багатьох пробіотиків одним із цих факторів є те, що механізми дії, за допомогою яких досягаються корисні клінічні результати, ще не з'ясовані. Наслідки цього означають, що ми не використовуємо ці інструменти повною мірою, можливості для вдосконалення існуючих методів лікування можуть бути не реалізовані, і ми ризикуємо тим, що пробіотичне

лікування призведе до гірших результатів для певних підгруп пацієнтів. Крім того, для отримання схвалення регуляторних органів на заяви про користь для здоров'я можуть знадобитися дані про механізм дії – Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ) та Європейське агентство з безпеки харчових продуктів визначають механізм дії як «біологічно правдоподібну послідовність ключових подій, що призводять до спостережуваного ефекту, підтвердженого надійними експериментальними спостереженнями та даними про механізм дії». Визначення точних корисних властивостей пробіотиків, безумовно, дозволить нам робити кращі прогнози щодо покращення результатів для здоров'я [32].

Lactobacillus продемонстрували ефективність у лікуванні різних захворювань, включаючи бактеріальний вагіноз, атопічний дерматит та інфекції верхніх дихальних шляхів (28–30). Однак, як вперше запропонував Мечников понад 100 років тому, більшість пробіотиків *Lactobacillus* споживаються з метою покращення здоров'я шлунково-кишкового тракту. За століття, що минуло з моменту появи цієї гіпотези, інтерес і знання навколо цієї теми значно зросли, проте потенціал для подальшого зростання в цій галузі є експоненціальним, і потрібно ще багато роботи, перш ніж ми повністю зрозуміємо та скористаємося складністю взаємозв'язків між *Lactobacillus* та здоров'ям кишечника [24].

У лабораторних умовах лактобактерії є відносно вибагливими та потребують збагаченого середовища для росту. Вони добре ростуть на кров'яному агарі, утворюючи невеликі, круглі, сіруваті колонії, які зазвичай не є гемолітичними. Деякі види також ростуть на селективному агарі *Lactobacillus*, такому як середовище Rogosa або LBS. Ці бактерії часто потребують складних поживних речовин, включаючи амінокислоти та вітаміни, і можуть рости повільніше порівняно з іншими мікроорганізмами. На генетичному рівні лактобактерії демонструють широкий спектр геномного різноманіття. Різноманітність лактобактерій лежить в основі

їхньої універсальності як симбіотичних організмів в організмі людини та як необхідних агентів у харчовій біотехнології [29].

Таким чином, рід *Lactobacillus* являє собою різноманітну та фізіологічно універсальну групу бактерій, що мають значне екологічне, промислове та медичне значення. Вони відіграють вирішальну роль у підтримці мікробного балансу хазяїна та широко використовуються у ферментації та пробіотичних застосуваннях. Хоча загалом вважаються безпечними, лактобактерії іноді можуть діяти як умовно-патогенні мікроорганізми у людей з ослабленим імунітетом [9].

1.4. Комплексна характеристика штаму *Lactobacillus casei*

Морфологічно лактобактерії характеризуються як грампозитивні палички, довжина яких варіюється від коротких до видовжених. Вони зазвичай тонкі та можуть мати злегка вигнуту або коринформну (булавоподібну) форму. Ці бактерії нерухомі та не утворюють спор. Залежно від виду, лактобактерії можуть зустрічатися поодинокі, парами або короткими чи довгими ланцюжками. Лактобактерії метаболізують вуглеводи для утворення молочної кислоти, що робить їх найбільшим родом у групі молочнокислих бактерій (МКБ). Станом на березень 2020 року 261 вид *Lactobacillaceae* було перекласифіковано до 25 родів (включаючи 23 нові роди) через їх надзвичайно високу генотипову, фенотипову та екологічну різноманітність [1].

Фізіологічно більшість лактобактерій є факультативними анаеробами, тобто вони можуть рости як за наявності, так і за відсутності кисню, хоча близько 20% видів, пов'язаних з людиною, є облігатними анаеробами. Вони каталазо-негативні, що означає, що вони не утворюють бульбашок під час впливу перекису водню. На основі їхніх шляхів ферментації їх поділяють на дві основні групи: гомоферментативні види, які виробляють переважно молочну кислоту як кінцевий продукт ферментації глюкози (наприклад,

Lactobacillus acidophilus та *L. casei*), та гетероферментативні види, які виробляють молочну кислоту разом з оцтовою кислотою, етанолом та вуглекислим газом (наприклад, *L. fermentum* та *L. brevis*). Оптимальна температура росту для більшості видів коливається від 30°C до 40°C, з оптимумом близько 37°C, що відповідає температурі тіла. Лактобактерії також є кислотостійкими та можуть рости в середовищах з рН до 4,0, хоча оптимальний діапазон рН становить від 5,5 до 6,2. Основним кінцевим продуктом метаболізму ферментації глюкози є молочна кислота, але також може утворюватися невелика кількість оцтової та бурштинової кислот. Вміст гуанін-цитозину (ГЦ) в їхній ДНК варіюється від 32 до 53 мол.%, що відображає їх генетичну різноманітність [16].

Традиційно види *Lactobacillus* можна розділити на три групи на основі їхнього метаболізму. Облігатна гомоферментативна група, яка ферментує вуглеводи з утворенням молочної кислоти як основного побічного продукту (наприклад, *L. acidophilus* та *L. salivarius*), факультативно гетероферментативна група, яка за певних умов або з певними субстратами ферментує вуглеводи з утворенням молочної кислоти, етанолу/оцтової кислоти та вуглекислого газу як побічних продуктів (наприклад, *L. casei* та *L. plantarum*), та облігатно гетероферментативна група, яка завжди ферментує вуглеводи з утворенням молочної кислоти, етанолу/оцтової кислоти та вуглекислого газу як побічних продуктів (наприклад, *L. reuteri* та *L. fermentum*) [31].

Лактобактерії колонізували численні ділянки людського тіла, зокрема травний тракт, включаючи ротову порожнину, та жіночі статеві шляхи. Зв'язок між лактобактеріями та людьми є мутуалістичним, причому види *Lactobacillus* пропонують хазяїну допомогу в перетравленні певних харчових субстратів, а також захист від патогенів в обмін на акомодацию та поживні речовини. Види *Lactobacillus* мають якості, які є комерційно бажаними як харчові добавки, так і інструменти в секторі харчових технологій. Основне застосування лактобактерій полягає у виробництві ферментованих молочних,

м'ясних або овочевих продуктів та хліба на заквасці, а також вони широко використовуються як пробіотики, тобто живі мікроорганізми, які при введенні в адекватних кількостях надають користь для здоров'я хазяїна. Лактобактерії отримали статус «загальноновизнаних як безпечні» (GRAS) від Управління з контролю за продуктами і ліками США (USFDA) та статус «кваліфікованої презумпції безпеки» (QPS) від Європейського агентства з безпеки харчових продуктів (EFSA), що робить їх використання у виробництві харчових продуктів відносно простим. Завдяки своєму економічному значенню, лактобактерії добре вивчені та, порівняно з іншими родами бактерій, добре охарактеризовані з точки зору геноміки, а також їхньої взаємодії з людьми з точки зору як здоров'я, так і захворювань. Ці особливості роблять види *Lactobacillus* ідеальними кандидатами на пробіотики [36].

Щоб вважатися ефективним, пробіотик повинен мати здатність виживати в шлунково-кишковому тракті (ШКТ), бути стійким до низького рН шлунка, не мати генів стійкості до антибіотиків і забезпечувати явну користь для хазяїна. З усіх пробіотиків види *Lactobacillus* є найбільш широко використовуваними та вивченими. Основні пробіотичні види *Lactobacillus* включають: *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, *L. delbrueckii subsp. lactis*, *L. fermentum*, *L. gasseri*, *L. helveticus*, *L. johnsonii*, *L. paracasei subsp. paracasei*, *L. plantarum*, *L. reuteri* та *L. rhamnosus* [15]. Існує багато досліджень потенційної користі для здоров'я від видів *Lactobacillus*, хоча дані свідчать про те, що багато особливостей цих пробіотичних бактерій залежать як від виду, так і від штаму. Незважаючи на це, було відзначено, що один вид пробіотиків може демонструвати покращення у різних когортах пацієнтів, наприклад, *L. rhamnosus* GG, а також, що ряд різних пробіотиків або їх комбінацій можуть демонструвати ефективність при одному й тому ж стані, наприклад, інфекції *C. difficile*, що свідчить про наявність збережених корисних властивостей. Як і у випадку з багатьма трансляційними терапіями,

ефективність не завжди підтримується від спостережень *in vitro* через доклінічні та клінічні дослідження з багатьох причин [35].

На жаль, для багатьох пробіотиків одним із цих факторів є те, що механізми дії, за допомогою яких досягаються корисні клінічні результати, ще не з'ясовані. Наслідки цього означають, що ми не використовуємо ці інструменти повною мірою, можливості для вдосконалення існуючих методів лікування можуть бути не реалізовані, і ми ризикуємо тим, що пробіотичне лікування призведе до гірших результатів для певних підгруп пацієнтів. Крім того, для отримання схвалення регуляторних органів на заяви про користь для здоров'я можуть знадобитися дані про механізм дії – Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ) та Європейське агентство з безпеки харчових продуктів визначають механізм дії як «біологічно правдоподібну послідовність ключових подій, що призводять до спостережуваного ефекту, підтвердженого надійними експериментальними спостереженнями та даними про механізм дії». Визначення точних корисних властивостей пробіотиків, безумовно, дозволить нам робити кращі прогнози щодо покращення результатів для здоров'я [32].

Lactobacillus продемонстрували ефективність у лікуванні різних захворювань, включаючи бактеріальний вагіноз, атопічний дерматит та інфекції верхніх дихальних шляхів (28–30). Однак, як вперше запропонував Мечников понад 100 років тому, більшість пробіотиків *Lactobacillus* споживаються з метою покращення здоров'я шлунково-кишкового тракту. За століття, що минуло з моменту появи цієї гіпотези, інтерес і знання навколо цієї теми значно зросли, проте потенціал для подальшого зростання в цій галузі є експоненціальним, і потрібно ще багато роботи, перш ніж ми повністю зрозуміємо та скористаємося складністю взаємозв'язків між *Lactobacillus* та здоров'ям кишечника [24].

У лабораторних умовах лактобактерії є відносно вибагливими та потребують збагаченого середовища для росту. Вони добре ростуть на кров'яному агарі, утворюючи невеликі, круглі, сіруваті колонії, які зазвичай

не є гемолітичними. Деякі види також ростуть на селективному агарі *Lactobacillus*, такому як середовище Rogosa або LBS. Ці бактерії часто потребують складних поживних речовин, включаючи амінокислоти та вітаміни, і можуть рости повільніше порівняно з іншими мікроорганізмами. На генетичному рівні лактобактерії демонструють широкий спектр геномного різноманіття. Різноманітність лактобактерій лежить в основі їхньої універсальності як симбіотичних організмів в організмі людини та як необхідних агентів у харчовій біотехнології [29].

Таким чином, рід *Lactobacillus* являє собою різноманітну та фізіологічно універсальну групу бактерій, що мають значне екологічне, промислове та медичне значення. Вони відіграють вирішальну роль у підтримці мікробного балансу хазяїна та широко використовуються у ферментації та пробіотичних застосуваннях. Хоча загалом вважаються безпечними, лактобактерії іноді можуть діяти як умовно-патогенні мікроорганізми у людей з ослабленим імунітетом [9].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ, УМОВИ І МЕТОДИКА ВИКОНАННЯ РОБОТИ

2.1. Місце та об'єкт досліджень

ПрАТ «Лакталіс-Миколаїв» є частиною міжнародної французької групи Lactalis, одного з найбільших світових виробників молочної продукції. Український підрозділ компанії працює через «Лакталіс-Україна» та включає кілька переробних підприємств, серед яких важливе місце займає завод у Миколаєві, розташований на вул. Виноградній, 2, з індексом 54018. За даними Business-Guide, на підприємстві працює приблизно 280 людей [22].

Виробнича інфраструктура ПрАТ «Лакталіс-Миколаїв» представлена транспортно-заготівельною інфраструктурою, а також відділами інструментального, ремонтного, енергетичного, складського забезпечення (рис. 4).



Рис. 4. Схема підприємства

Основна діяльність «Лакталіс-Миколаїв» пов'язана з переробкою молока та виготовленням понад 200 видів готової продукції. До ключових

брендів, які виготовляються або фасуються на підприємстві, належать «President», «Galbani», «Дольче», «Lactel», «Лактонія», «Фанні» та «Локо Моко». Асортимент, який виробляється на ПрАТ «Лакталіс-Миколаїв» можна представити у вигляді таблиці 2. Асортимент охоплює молоко, йогурти, сиркові десерти, тверді та м'які сири, сметану, вершкове масло та інші молочні вироби [22].

Таблиця 2

Асортимент ПрАТ «Лакталіс-Миколаїв»

Торгова марка	Продукція, що виробляється
ТМ Фанні	Сирки, питні йогурти, ложкові йогурти, десерти, кефіри, ряжанки, глазуrowані сирки, сиркова маса
ТМ Дольче	Аеровані десерти та муси, десерти сиркові та кисломолочні, ложкові йогурти, питні йогурти, глазуrowані сирки.
ТМ Лактонія	Лактонія імун+, питні йогурти, лактонія кефірна, лактонія кефірна, ряжанка
ТМ Локо Моко	Ложкові йогурти, питні йогурти, молоко Локо Моко
ТМ President	М'які сири (Камамбер, Брі), тверді сири (Едам, Мааздам, Гауда), свіжі сири, плавлений сир в блочках, у ванночках, порційний, сири з козиного молока, блакитні сири (Блю д'Овернь), сири кисломолочні, сметани, масло, вершки
ТМ Galbani	Свіжі сири (Маскарпоне), тверді сири (Гран Густо)
ТМ Leerdamer	Тверді сири
ТМ Шостка	Тверді сири, плавлений сир в блочках, у ванночках
ТМ Castelli	Свіжі сири (Маскарпоне), тверді сири
ТМ Societe	Блакитні сири
ТМ Lactel	Молоко безлактозне, Молоко з вітаміном D (0,5%, 1%, 2,5%, 3,2%), айран

ПрАТ «Лакталіс-Миколаїв» має проєктну потужність близько 450 тонн молока на добу, що відповідає приблизно 450 тисячам літрів сировини. Підприємство здатне переробляти таку кількість сировини, що дозволяє

випускати значні обсяги молочної продукції – від десятків тонн кисломолочного асортименту до значних партій сирів та масла [22].

Для аналізу обсягів виробництва підприємства було узагальнено динаміку кількості продукції (SKU), вираженої у тисячах одиниць, за період 2021–2025 років (рис. 5). Дані подані помісячно, що дозволяє оцінити сезонність, річні коливання та загальні тенденції зміни виробничих обсягів. Порівняння цих показників дає можливість відстежити як короткострокові коливання, так і довгострокові структурні зміни в діяльності підприємства [19].

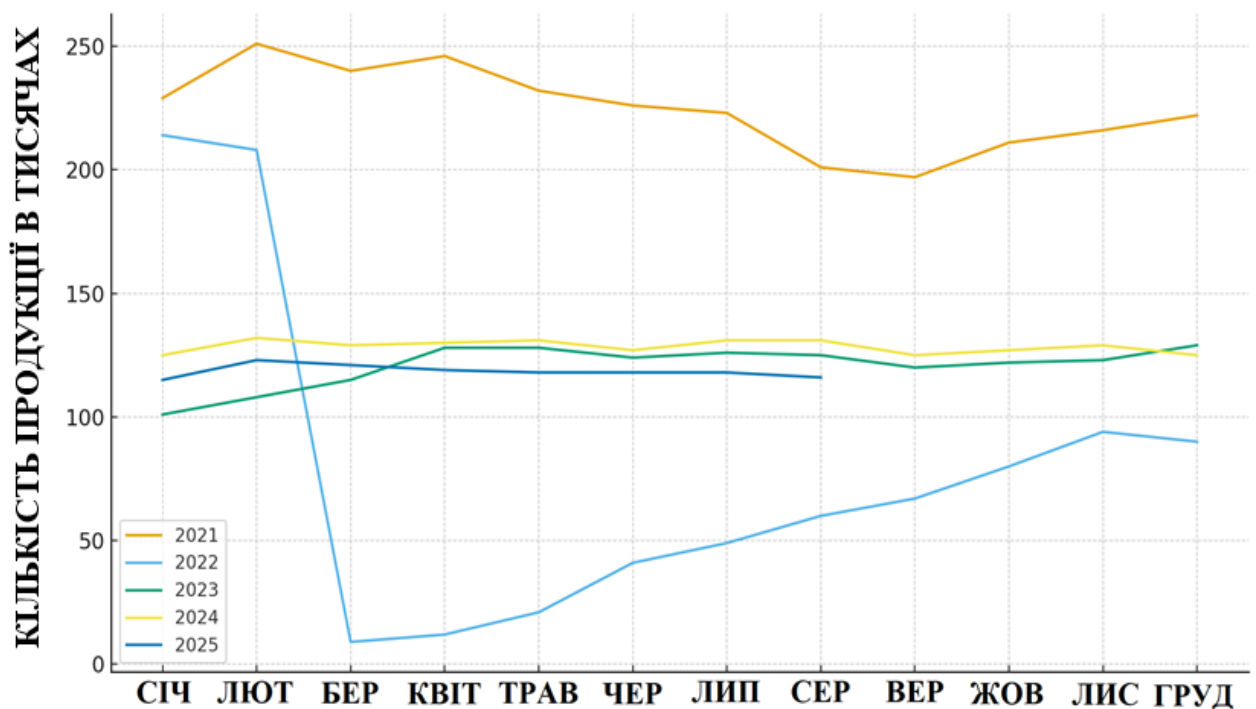


Рис. 5. Динаміка обсягів виробництва за 2021–2025 роки

У 2021 році обсяги продукції коливалися в межах 201–251 тис. SKU. Найвищі показники спостерігались у лютому (251 тис.) та березні (240–246 тис.), тоді як найнижчий рівень був зафіксований у вересні (197 тис.). Загалом рік характеризується стабільно високими виробничими обсягами без різких провалів [22].

2022 рік демонструє значне падіння виробництва – особливо у березні (лише 9 тис. SKU). Поступове відновлення починається з квітня (12 тис.) і

триває до кінця року, коли обсяги доходять до 80–94 тис. SKU. Цей рік пов'язаний з початком повномасштабного вторгнення, тому став кризовим і супроводжувався різким спадом у першому кварталі та повільним відновленням у другій половині року [22].

У 2023 році виробництво стабілізується і виходить на середній рівень 101–129 тис. SKU на місяць. Найвищі показники припадають на березень–квітень та грудень (115–129 тис.), тоді як найнижчі – на вересень (120 тис.). Порівняно з 2022 роком, різниця є суттєвою: обсяги майже наближаються до довоєнних [22].

2024 рік демонструє рівномірність та відсутність різких коливань у межах 125–132 тис. SKU. Виробництво залишається стабільним протягом усього року, що може свідчити про адаптацію підприємства до нових умов, налагодження логістики та попиту [22].

За доступні дані 2025 року обсяги становлять 115–121 тис. SKU, що відповідає рівню попереднього року, хоча у серпні спостерігається падіння до 116 тис. SKU. Загалом тенденція свідчить про збереження стабільних параметрів виробництва [22].

Аналіз даних дозволяє простежити чітку динаміку: після стабільного та високого рівня виробництва у 2021 році підприємство зазнало різкого спаду в 2022 році, що особливо видно у провальних весняних показниках. Однак уже з другої половини 2022 року розпочалося поступове відновлення, яке в 2023 році трансформувалося у стабілізацію. У 2024–2025 роках підприємство виходить на рівень прогнозованого та рівномірного виробництва, хоча поки що не повернулося до масштабів 2021 року. Загальна тенденція свідчить про поступове відновлення та стабілізацію виробничих потужностей після кризового періоду [19].

Дослідження штамів проводилося у лабораторії при підприємстві ПрАТ «Лакталіс-Миколаїв».

Бактеріальна лабораторія на підприємстві ПрАТ «Лакталіс-Миколаїв» функціонує як ключова ланка контролю безпечності та якості молочної

продукції, забезпечуючи постійний мікробіологічний моніторинг сировини, напівфабрикатів, виробів і стану виробничого середовища. Її організація та оснащення відповідають вимогам українського законодавства, що регламентує умови роботи харчових підприємств та мікробіологічних лабораторій [47].

Оснащення бактеріологічної лабораторії включає стерильні робочі бокси або ламінарні шафи, автоклави для стерилізації, інкубатори, термостати, мікроскопи, охолоджувані шафи для зберігання поживних середовищ і реактивів, а також окремі зони для підготовки проб, посіву, інкубації й обліку результатів, деякі з них зображені на рис. 6 [22].



Рис. 6. Автоклав (а) та термостат для вирощування культуральних середовищ (б)

Таке технічне забезпечення відповідає вимогам до мікробіологічних досліджень, визначених ДСТУ ISO 7218:2007 «Мікробіологія харчових продуктів і кормів. Загальні вимоги та рекомендації» та принципам належної лабораторної практики [55].

Перспективи «Лакталіс-Миколаїв» пов'язані з кількома ключовими факторами. Належність до глобальної корпорації забезпечує доступ до інвестицій, технологій і маркетингових рішень. Широкий асортимент дозволяє компанії тримати позиції навіть на висококонкурентному ринку, а сучасні стандарти якості роблять можливим вихід на експортні ринки або співпрацю з міжнародними партнерами. Водночас підприємство стикається з викликами – конкуренцією на внутрішньому ринку, коливаннями вартості

молока-сировини, логістичними труднощами й потребою швидко реагувати на нові харчові тренди, такі як популярність альтернативної рослинної продукції чи зниження вмісту цукру та жирів [22].

2.2 Методика виконання роботи

Дослідження проводилось при ПрАТ «Лакталіс-Миколаїв» у період з 14.07.2025 по 31.08.2025.

Мета досліджень – оцінити біотехнологічні властивості різних штамів групи *Lactobacillus casei*.

Об'єкт досліджень – кластерний аналіз штамів групи *Lactobacillus casei*.

Предмет досліджень – штамova варіабельності *Lactobacillus casei* та їх ферментаційні властивості.

Для виконання мети були поставлені наступні завдання:

- Здійснити ідентифікацію та надати класифікацію штамів групи *Lactobacillus casei*;
- Провести філогенетичний аналіз кластерів штамів групи *Lactobacillus casei*;
- Надати морфологічну та мікробіологічну характеристику штамів групи *Lactobacillus casei*;
- Охарактеризувати ферментаційні властивості штамів групи *Lactobacillus casei*;
- Надати економічний аналіз проведених досліджень.

Методи дослідження – використано філогенетичні, мікробіологічні, фізико-хімічні, біохімічні та статистичні методи для комплексної оцінки різних штамів *Lactobacillus casei*.

Класифікацію штамів *Lactobacillus casei* та їх філогенетичні дослідження і кластерний аналіз здійснювалися на основі аналітичного аналізу даних з використанням Meta-аналізу [13].

Для визначення мікробіологічних характеристик кластерного складу *Lactobacillus casei* використовувався метод мікроскопії пофарбованих препаратів та бактеріологічні дослідження. Нормативні показники та характеристики методів зазначені в ДСТУ IDF 73A:2003 Молоко і молочні продукти. Підрахунок кількості коліформ. Метод підрахунку колоній і метод визначення найімовірнішого числа за температури 30 °C [53]; ДСТУ IDF 122B:2003 Молоко і молочні продукти. Підготовка зразків і розведень для мікробіологічних досліджень [52]; ДСТУ ISO 707:2002 Молоко та молочні продукти. Настанови з відбирання проб [54]; ДСТУ 3622-98 Молоко та молочні продукти. Відбирання проб і готування їх до випробовування [51].

Показник рН вимірювався за допомогою електрометричного методу, який ґрунтується на вимірі потенціалу водневого іонного селективного електрода (рН-електроду). рН-електрод поринає в закваску, і його потенціал вимірюється за допомогою рН-метра. Це представлено в ДСТУ 26781-98 Молоко. Метод вимірювання рН, який також використовується для вимірювання рН заквасок [49].

У межах проведеного дослідження як основу для культивування молочнокислих мікроорганізмів було використано поживне середовище, приготовлене на знежиреному молочному обрaті. Застосування саме такого середовища забезпечило достатній рівень доступного азоту та вуглеводів для росту досліджуваних штамів, а також дозволило відтворити умови, максимально наближені до природних субстратів для *Lacticaseibacillus*. Правильне знежирення, стерилізація та контроль кислотності обрaта гарантували стабільність середовища та відсутність інгібуючих факторів, що було критично важливим для отримання достовірних результатів під час подальших експериментальних етапів [3].

Для проведення досліджень було здійснено попереднє знежирення молока, оскільки молочний жир може пригнічувати ріст частини мікроорганізмів. Для цього молоко центрифугували 15 хв при 700–1500 обертів, після чого кип'ятили, витримували в холодильнику протягом двох

діб та стерилізували автоклавуванням при 0,5 атм протягом 30 хв. Було враховано, що перед стерилізацією кислотність не повинна перевищувати 22 °Т, інакше середовище згортається. Під час автоклавування інколи відмічали побуріння через карамелізацію лактози та пептонізацію казеїну, а також випадіння осаду казеїну при тривалішому нагріванні, що робить таке середовище непридатним для роботи [3].

Для культивування молочнокислих бактерій використовували оптимальне розведення знежиреного молока водою у співвідношенні 2:1[3].

Для підрахунку кількості життєздатних мікробів використовували поживне середовище MRS (DeMan-Rogosa-Sharpe), яке призначене для виділення та культивування лактобацил [55].

При приготуванні поживного середовища для культивації мікроорганізмів використовували розрахунки на основі 1000 мл дистильованої води. До середовища додавали дріжджовий екстракт (4,0 г), м'ясний екстракт (10,0 г), гідролізат казеїну (10,0 г), глюкозу (20,0 г), амонійний цитрат (двузамещений) (2,0 г), ацетат натрію (5,0 г), Твін 80 (1,0 г), K_2HPO_4 (2,0 г), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (0,2 г) та $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ (0,05 г). Для приготування MRS-агару також використовували сорбінову кислоту (0,4 г), цистеїн HCl (0,4 г) та агар (20,0 г) [55].

Компоненти розчиняли у воді, доводили до рН 6,2–6,5, автоклавували при 0,5 атм. протягом 20-30 хв [55].

На заключному етапі досліджень здійснювали обрахунок економічної ефективності проведених досліджень [57].

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Ідентифікація та класифікація штамів групи *Lactobacillus casei*

Лактобактерії використовуються в комерційних цілях у виробництві ферментованих харчових продуктів, включаючи молочні продукти, ферментовані овочі та м'ясні продукти, і як такі споживаються як частина звичайного раціону. Крім того, лактобактерії є важливим компонентом мікробіоти людини та інших ссавців, де вони присутні в дихальних шляхах, шлунково-кишковому тракті (ШКТ) та статевих шляхах. Лактобактерії присутні у стічних водах та рослинному матеріалі, що розкладається.

Наявність представників роду *Lactobacillus* має дуже широку різноманітність, що призвело до еволюції кількох різних груп лактобактерій, кожна з яких адаптована до певного середовища, з якого вона походить. Рід *Lactobacillus* належить до типу *Firmicutes*, класу *Bacilli*, порядку *Lactobacillales* і родини *Lactobacillus*. До родини *Lactobacillus* також належать роди *Paralactobacillus* і *Pediococcus*. Найближчою родиною до лактобактерій є родина *Leuconostocaceae*.

Група *Lactobacillus casei*, до якої входять тісно споріднені види *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* та *Lactobacillus rhamnosus*, є однією з найбільш досліджених і широко застосовуваних пробіотичних груп лактобактерій. Ці три види були ретельно вивчені та класифіковані через їхні корисні для здоров'я властивості.

Група *L. casei* залишається об'єктом великого наукового інтересу як пробіотик і широко використовується в промисловості, тому вона стала вибором для цього дослідження.

Lactobacillus casei вперше був запропонований як новий вид у 1971 році, але ця характеристика вперше була поставлена під сумнів у 1996 році.

Було запропоновано перекласифікувати типові штами *L. casei* ssp. *casei* ATCC 393 та *L. rhamnosus* ATCC 15820 як раніше описані *L. zeae* через високу схожість один з одним та відокремленість від решти кластера групи *Lactobacillus casei*. Назву *L. paracasei* було відхилено, і як новий типовий штам для виду було запропоновано *L. casei* ATCC 334. Подальші дослідження продовжували ставити під сумнів філогенетичний зв'язок між видами з використанням більш уточнених методів, таких як порівняльний аналіз послідовностей гена *recA* та міжгенних спейсерних ділянок 23S-5S рРНК. У 2002 році було запропоновано, щоб штам, позначений як *L. casei* ssp. *casei* ATCC 393, фактично був перекласифікований як *L. zeae*, а штами *L. paracasei* – як *L. casei* ATCC 334. У 2008 році типовий штам *L. casei* був підтверджений як оригінальний штам ATCC 393, а штам, позначений як ATCC 334, був відхилений, оскільки він представляв окремий таксон, *L. paracasei*. Сучасні дослідження продовжують порівнювати та перекласифікувати відомі види в межах групи відповідно до розроблених та нових методів.

Наразі на основі гомології ДНК-ДНК вид *L. casei* був перекласифікований на три види та два підвиди (табл. 3).

Таблиця 3

Сучасна класифікація комплексу *Lactobacillus casei* на основі гомології ДНК-ДНК

Актуальна таксономічна назва	Підвиди (за сучасною класифікацією)	Попередня класифікація / історичні таксони
<i>Lactobacillus casei</i>	—	<i>L. casei</i> subsp. <i>casei</i>
<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>L. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>	<i>L. casei</i> subsp. <i>alactosus</i> , <i>L. casei</i> subsp. <i>pseudoplantarum</i>
	<i>L. paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	<i>L. casei</i> subsp. <i>tolerans</i>
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	—	<i>L. casei</i> subsp. <i>rhamnosus</i>

Колишній вид *L. casei* у класичному розумінні виявився гетерогенним таксоном, який включав кілька генетично відмінних груп. Застосування

методів молекулярної біології дозволило розмежувати їх на три самостійні види: *L. casei*, *L. paracasei* та *L. rhamnosus*. Це свідчить про значну генетичну різноманітність колишнього комплексу та потребу у його уточненні. Другий важливий момент полягає в тому, що найбільш варіабельним виявився вид *L. paracasei*, який був поділений на два підвиди – *L. paracasei subsp. paracasei* та *L. paracasei subsp. tolerans*.

Аналіз історичних назв показує, що саме цей таксон був “накопичувачем” різних підвидів, які традиційно відносили до *L. casei*, але не мали достатньої генетичної спорідненості з типовими штамами. Окремо слід підкреслити перекласифікацію штамів, що раніше належали до *L. casei subsp. rhamnosus*, у самостійний вид *L. Rhamnosus* (рис. 7).

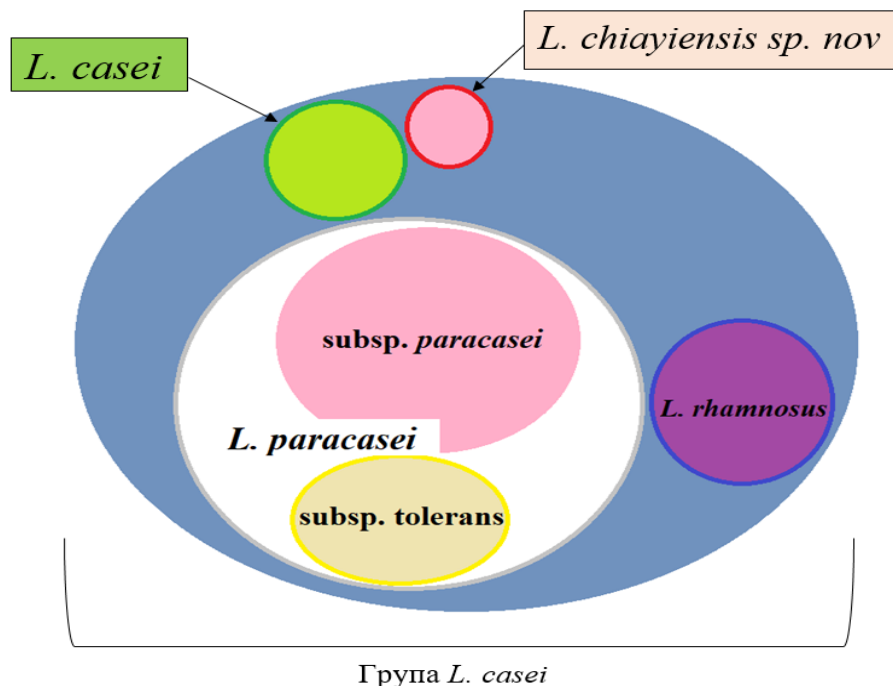


Рис. 7. Поточний стан класифікації групи *L. casei*.

Це підтверджує унікальність його генетичного профілю та зумовлює відмінні технологічні і пробіотичні властивості даного виду, які активно використовуються в харчовій промисловості та медицині (табл. 4). Перший вид, *L. casei*, відповідає типовим штамам історичної номенклатури й демонструє високу внутрішньовидову однорідність. Він характеризується помірною кислото- та жовчостійкістю, стійким ростом у межах 30–40 °С.

Таблиця 4

**Порівняльна таблиця основних характеристик представників
комплексу *Lactobacillus casei***

Ознака / Вид	<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
Таксономічний статус	самостійний вид, виокремлений після корекції ДНК-гомології	вид, що включає два підвиди (<i>subsp. paracasei</i> , <i>subsp. tolerans</i>)	самостійний вид, раніше класифікувався як підвид <i>L. casei</i>
Походження класифікаційних змін	найближчий до типових штамів історичного <i>L. casei</i>	об'єднав значну кількість підвидів, раніше віднесених до <i>L. casei</i>	генетично найбільш віддалений від комплексу <i>casei</i>
Генетична ідентичність / гомологія ДНК	висока гомологія між типовими штамми, чітко відмежований від інших	висока внутрішньовидова варіабельність; окремі кластери всередині виду	чітко відокремлений кластер; значні генетичні дистанції від <i>L. casei</i> та <i>L. paracasei</i>
Фізіолого-біохімічні характеристики	добре росте при 30–40 °С; толерантний до низького рН	найбільш стійкий до кислотності й жовчі; оптимум 37 °С	висока кислото- та жовчостійкість; гарний ріст при 37 °С
Екологічна ніша	молочні продукти, кишківник людини і тварин	широко поширений у молочних продуктах і ферментованих харчах	домінуючий у кишкової мікробіоти людей; часто використовується в пробіотиках
Технологічні властивості	участь у ферментації молока, утворення молочної кислоти	висока стабільність у промислових умовах; часто застосовується у заквасках	добра адгезія до епітелію; активний у пробіотичних продуктах
Пробіотичний потенціал	помірний, залежить від штаму	високий, але штамоспецифічний	дуже високий: антипатогенна активність, антимікробні речовини
Приклади практичного використання	виробництво сиру та кисломолочних продуктів	закваски, технологічні культури у харчовій промисловості	медичні пробіотики, дитяче харчування, функціональні продукти
Унікальні властивості	традиційний технологічний вид	велика кількість промислово-релевантних штамів	яскраво виражені пробіотичні властивості (<i>L. rhamnosus GG</i>)

При цьому відзначається широким екологічним поширенням у ферментованих продуктах. За технологічною цінністю штами *L. casei* традиційно використовуються у виробництві молочних продуктів, проте їх пробіотичний потенціал є менш вираженим порівняно з іншими представниками комплексу.

Другий таксон, *L. paracasei*, є найчисельнішим за різноманіттям і поділяється на два підвиди: *L. paracasei subsp. paracasei* та *L. paracasei subsp. tolerans*. Його генетична структура вирізняється значною варіабельністю, що корелює з адаптивністю до різних умов середовища. Цей вид демонструє високу кислотостійкість, добру переносимість жовчних солей та оптимальний ріст при температурі 37 °C. Завдяки цьому *L. paracasei* є одним із ключових видів для створення промислових заквасок і широко використовується у ферментаційних технологіях харчової промисловості.

Найбільш генетично відокремленим є *L. rhamnosus*, який раніше розглядався як підвид *L. casei*. Сучасні молекулярні дослідження підтвердили, що він формує окремий філогенетичний кластер, що вирізняється значними генетичними дистанціями від *L. casei* та *L. paracasei*. *L. rhamnosus* демонструє високий рівень толерантності до низьких рН та жовчних солей, а також здатність до ефективної адгезії до епітелію кишківника. Саме ці властивості визначили його провідну роль у медичних пробіотичних препаратах, зокрема завдяки добре вивченому штаму *L. rhamnosus* GG, який є одним із найефективніших у профілактиці та терапії дисбіотичних станів.

Порівняння трьох видів дозволяє констатувати, що попри спільне еволюційне походження, вони суттєво відрізняються за функціональними властивостями, що визначає їхнє застосування у різних напрямках біотехнології. *L. casei* залишається традиційною ферментаційною культурою; *L. paracasei* є універсальним видом з високою технологічною стабільністю, придатним для широкого спектра промислових застосувань; *L. rhamnosus* – провідний пробіотичний мікроорганізм з високою медичною значущістю.

3.2. Філогенетичний аналіз штамів групи *Lactobacillus casei*

Наразі лактобактерії широко застосовуються в галузях, пов'язаних з харчовими продуктами, кормами, фармацевтикою та біотехнологіями; наприклад, їх використовують як закваски для молочної промисловості, пробіотики, носії вакцин та інокулянти для силосу, що є одними з найбільш економічно цікавих застосувань молочнокислих бактерій (МКБ). Лактобактерії – це грампозитивні, паличкоподібні, факультативно анаеробні або мікроаерофільні, неспороутворюючі, кислототолерантні та каталазонегативні бактерії з вмістом ДНК G+C зазвичай менше 50 мол.%. *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* та *Lactobacillus rhamnosus* філогенетично та фенотипічно близькоспоріднені, разом вони розглядаються як група *L. casei*.

Таксономія групи *L. casei* неодноразово змінювалася, що і викликало наш інтерес у дослідженні філогенетичних зв'язків споріднених штамів. На рисунку 8 представлено результати порівняльного філогенетичного аналізу представників *Lactobacillus casei*–комплексу.

Organism		1	2	3	4	5	6
1	<i>L. casei</i> ATCC 393 ^T	100	42	44	12	10	12
2	<i>L. chiayiensis</i> sp. nov. BCRC 18859	45	100	90	8	7	11
3	<i>L. chiayiensis</i> sp. nov. BCRC 81062 ^T	44	84	100	9	7	11
4	<i>L. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> JCM 8130 ^T	12	7	9	100	68	9
5	<i>L. paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> DSM 20258 ^T	11	8	8	85	100	8
6	<i>L. rhamnosus</i> JCM 1136 ^T	11	10	11	8	7	100

Рис. 8. Філогенетичний аналіз групи *Lactobacillus casei*, показані на тепловій карті в програмному забезпеченні Gegenees

Теплова карта відображає рівень геномної гомології між досліджуваними штамми, виражений у відсотках. Значення 100 % (зелений колір) означає повну генетичну ідентичність референтного геному відносно

самого себе, тоді як зменшення ступеня спорідненості послідовно відображається жовтими, помаранчевими та червоними відтінками.

Як видно з матриці подібності, штам *L. casei* ATCC 393^T демонструє високий рівень гомології виключно з представниками нового виду *L. chiayiensis* (42–45 % у діагональних порівняннях), що підкреслює їхню еволюційну близькість в межах *casei*-кластера. Обидва штами *L. chiayiensis* мають між собою найбільшу взаємну схожість (84–90 %), що підтверджує їх таксономічну єдність та підтримує нещодавню ревізію виду.

У протилежність цьому, представники *L. paracasei* – підвиди *paracasei* та *tolerans* – демонструють високу внутрішню геномну спорідненість (68–85 %), що підтверджує їхню класифікацію в межах одного виду та відокремленість від *L. casei*. Низькі показники гомології між *L. paracasei* та *L. casei* (7–12 %) свідчать про чітку філогенетичну диференціацію цих таксонів. Подібна тенденція характерна й для порівняння зі штамом *L. rhamnosus* JCM 1136^T, який демонструє лише 7–12 % гомології з іншими видами, що підтверджує статус *L. rhamnosus* як найбільш генетично віддаленого члена комплексу.

Особливо показовим є чіткий колірний контраст між групами: зелено-жовта зона для *L. casei*–*L. chiayiensis*, жовто-помаранчева – для внутрішньовидових порівнянь *L. paracasei*, та стабільно червоний сегмент у порівняннях з *L. rhamnosus*. Це візуально відображає три чітко сформовані філогенетичні кластери, що підтверджує сучасну систематику: *L. casei sensu stricto*, *L. Chiayiensis*, *L. Paracasei*, *L. rhamnosus* як окремий, найбільш дистанційований вид.

Крім того на рисунку 9 зображено філогенетичне дерево, побудоване на основі порівняльного аналізу геномних послідовностей представників комплексу *Lacticaseibacillus casei*. Дерево відображає еволюційні взаємозв'язки між типовими штамми видів та підвидів, включно з новоідентифікованими ізолятами, які надалі були запропоновані як окремий вид *Lacticaseibacillus chiayiensis* sp. nov.

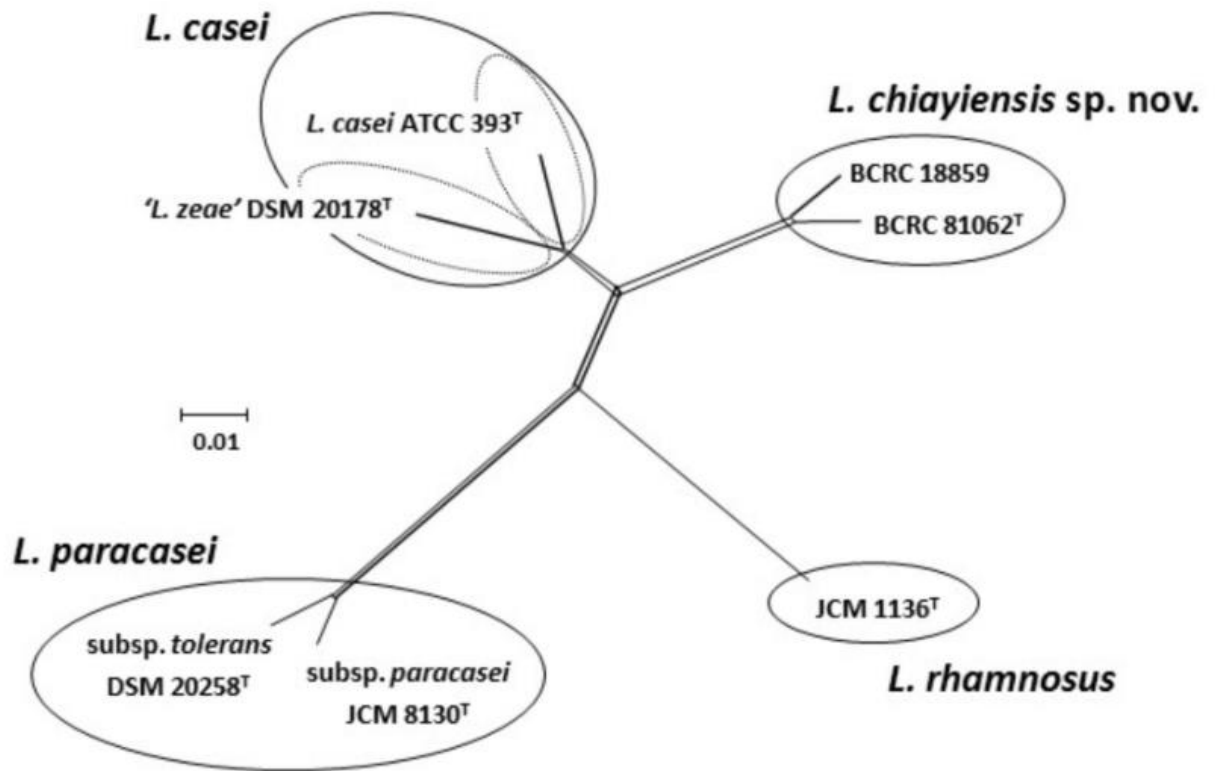


Рис. 9. Філогенетична структура групи *Lacticaseibacillus casei*

Філогенетичний аналіз демонструє чітку просторову диференціацію штамів на декілька еволюційних кластерів. Зокрема, штами *L. casei* ATCC 393^T та “*L. zeae*” DSM 20178^T формують компактну монофілетичну групу, що підтверджує їхню близьку генетичну спорідненість і належність до одного еволюційного кластера. Гілки цього кластера порівняно короткі, що свідчить про мінімальні генетичні відмінності між штамми.

Окремий, добре відокремлений кластер утворюють ізоляти BCRC 18859 та BCRC 81062^T, що були ідентифіковані як нові представники. Їхнє положення на дереві віддалене як від кластера *L. casei*, так і від групи *L. paracasei*, що вказує на значний рівень генетичного розходження. Сукупність філогенетичних даних, включно з фенотиповими та хемотаксономічними характеристиками, підтверджує, що ці нові штами не відповідають жодному з відомих видів комплексу. Саме це стало підставою для пропозиції виділити їх у новий вид – *Lacticaseibacillus chiayiensis* sp. nov.

Знизу дерева чітко простежуються еволюційні позиції підвидів *L. paracasei* subsp. *tolerans* DSM 20258^T та *L. paracasei* subsp. *paracasei* JCM

8130^T, які утворюють окремий кластер, що підтверджує їхню видовою належність та генетичну віддаленість від *L. casei sensu stricto*. Значне розходження гілок у обох підвидів свідчить про внутрішню генетичну варіабельність у межах виду *L. paracasei*.

Найбільш віддаленим таксоном на дереві є *L. rhamnosus* JCM 1136^T, гілка якого різко відходить від центрального вузла. Це відображає його значну еволюційну дистанцію від інших представників *Lacticaseibacillus* та підтверджує його статус як окремого виду, що не входить безпосередньо до *casei-paracasei* комплексу.

Зображене філогенетичне дерево підтверджує наявність кількох чітко структурованих еволюційних кластерів у межах *L. casei*-комплексу та підтримує пропозицію виокремлення нових ізолятів у вид *L. chiayiensis* sp. nov. Результати аналізу узгоджуються з отриманими фенотиповими та хемотаксономічними даними, що комплексно підтверджує їхню таксономічну самостійність.

Також нами була проведена філогенетична структура комплексу *Lacticaseibacillus casei* із поділом на кластери та субкластери (рис. 10).

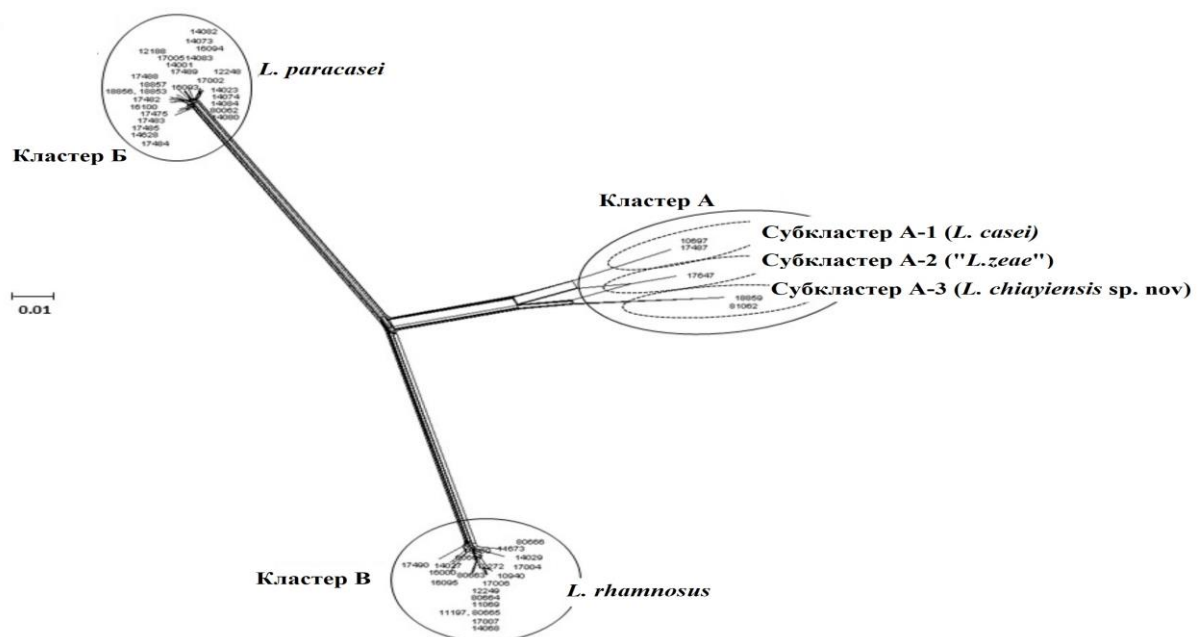


Рис. 10. Філогенетична структура комплексу *Lacticaseibacillus casei* із поділом на кластери та субкластери

Дерево демонструє чітке групування штамів у три основні кластери (А, Б та В), що відображають їхню еволюційну спорідненість та ступінь генетичної дивергенції. Кластер А є найбільш розгалуженим та включає три субкластери:

Субкластер А-1 (*L. casei*), до якого відносяться референтні штами виду *L. casei*. Гілки всередині субкластера короткі, що свідчить про низьку внутрішньовидову варіабельність.

Субкластер А-2 ("*L. zeae*"), який містить штами, історично віднесені до виду "*L. zeae*". Їхня генетична відокремленість пояснює попередні труднощі в класифікації та підтверджує їхню близькість до *L. casei* при одночасному збереженні відмінностей.

Субкластер А-3 (*L. chiayiensis sp. nov.*), що включає новоідентифіковані штами, які формують чітку, віддалену групу. Їхня позиція на дереві свідчить про значне геномне розходження від *L. casei* та "*L. zeae*", що стало підставою для виділення їх в окремий новий вид *Lacticaseibacillus chiayiensis sp. nov.*

Кластер Б представлений штамми виду *L. paracasei*. Вони утворюють компактну, добре підтриману філогенетичну групу, яка еволюційно віддалена від кластера А. Довжина гілок свідчить про більшу внутрішньовидову різноманітність порівняно з *L. casei*.

Кластер В складається зі штамів *L. rhamnosus*, які формують окрему еволюційну лінію, найбільш віддалену від інших двох кластерів. Це відображає його значну генетичну та таксономічну відмінність від представників комплексу *L. casei/paracasei*.

В масштабі дерева застосовано еволюційну дистанцію 0,01, що дозволяє оцінити ступінь генетичного розходження між штамми. Товщина гілок відображає рівень підтримки вузлів та надійність їхнього філогенетичного положення.

Отже сформована теплокарта, підтверджує глибоку генетичну дивергенцію між видами *L. casei*-комплексу та вказує на високу необхідність використання геномних методів для точної ідентифікації штамів. Результати

аналізу також демонструють, що традиційні фенотипові критерії не відображають фактичної геномної гетерогенності групи, а повногеномне порівняння є ключовим інструментом для сучасної таксономічної ревізії молочнокислих бактерій.

А, результати досліджень показують складну філогенетичну структуру комплексу *Lacticaseibacillus casei* і демонструють чітке розмежування між видами *L. casei*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus*, а також новим видом *L. chiayiensis* sp. nov., що підтверджує коректність їх сучасної таксономічної класифікації.

Оновлена класифікація дозволяє точніше відображати природну філогенетичну структуру комплексу *L. casei*. Це має практичне значення для коректної ідентифікації промислових штамів, оптимізації технологічних процесів ферментації та правильного маркування пробіотичних продуктів.

3.3. Морфологічна та мікробіологічна характеристика штамів групи *Lactobacillus casei*

Штами групи *Lactobacillus casei* належать до представників молочнокислих бактерій і відіграють важливу роль у формуванні мікробних екосистем, ферментаційних процесах та пробіотичних технологіях. Вони характеризуються типовою для роду *Lactobacillus* морфологією: клітини мають паличкоподібну форму, розташовуються поодинокі, парами або короткими ланцюжками, є грампозитивними та неспороутворюючими. *L. casei* проявляють факультативно анаеробний тип метаболізму та здатність до гомоферментативного молочнокислого бродіння, утворюючи переважно молочну кислоту як кінцевий продукт.

З мікробіологічної точки зору, ці бактерії демонструють високу адаптивність до різних екологічних ніш, у тому числі до умов шлунково-кишкового тракту людини та тварин. Штами *Lactobacillus casei* відзначаються стійкістю до дії низького рН і жовчних солей, синтезують ряд

антимікробних речовин (бактеріоцинів) і здатні конкурувати з патогенними мікроорганізмами, що визначає їхній виражений пробіотичний потенціал. З огляду на ці властивості, представники групи *L. casei* широко застосовуються у харчовій та фармацевтичній промисловості, а також є об'єктом активних наукових досліджень у сферах мікробіології, біотехнології та медичної мікроекології.

Представники групи *Lactobacillus casei* демонструють низку спільних морфологічних і культуральних ознак, притаманних лактобациллам, проте водночас зберігають видову специфічність, що дозволяє їх диференціювати. Зведені результати порівняння подано (табл. 5).

Таблиця 5

**Морфологічні та культуральні властивості представників групи
*Lactobacillus casei***

Показник	<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Lactobacillus chiayiensis sp. nov.</i>
Форма клітин	прямі або злегка вигнуті палички	варіабельні палички, частіше довші	короткі палички, схильні до ланцюжків	прямі короткі палички
Розміри клітин, мкм	0,7–1,0 × 2,0–4,0	0,8–1,2 × 2,5–4,5	0,8–1,0 × 2,0–3,0	0,7–1,0 × 1,8–3,0
Розташування	поодинокі, парами, короткі ланцюжки	переважно поодинокі або парами	короткі та середні ланцюжки	поодинокі або парами
Наявність спор	не утворює	не утворює	не утворює	не утворює
Рухливість	нерухливі	нерухливі	нерухливі	нерухливі
Gram-реакція	позитивна	позитивна	позитивна	позитивна
Колоніальна морфологія	кремові, круглі, опуклі	великі, матові колонії	слизові, блискучі	невеликі, матові
Оптимальна температура росту, °C	30–37	30–37	37	30–37
Оптимальний рН	5,5–6,5	5,5–6,5	6,0–6,5	5,5–6,5
Тип атмосферних умов	мікроаерофіли, факультативні анаероби	те саме	те саме	те саме

Усі досліджувані штами (*L. casei*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus*, та новоописаний *L. chiayiensis* sp. nov.) характеризуються грампозитивною реакцією та відсутністю здатності до спороутворення й рухливості, що є типовими ознаками роду *Lacticaseibacillus*. Проте аналіз морфології клітин показує певні міжвидові відмінності. Так, *L. casei* утворює прямі або злегка вигнуті палички середніх розмірів ($0,7\text{--}1,0 \times 2,0\text{--}4,0$ мкм) (рис. 11).

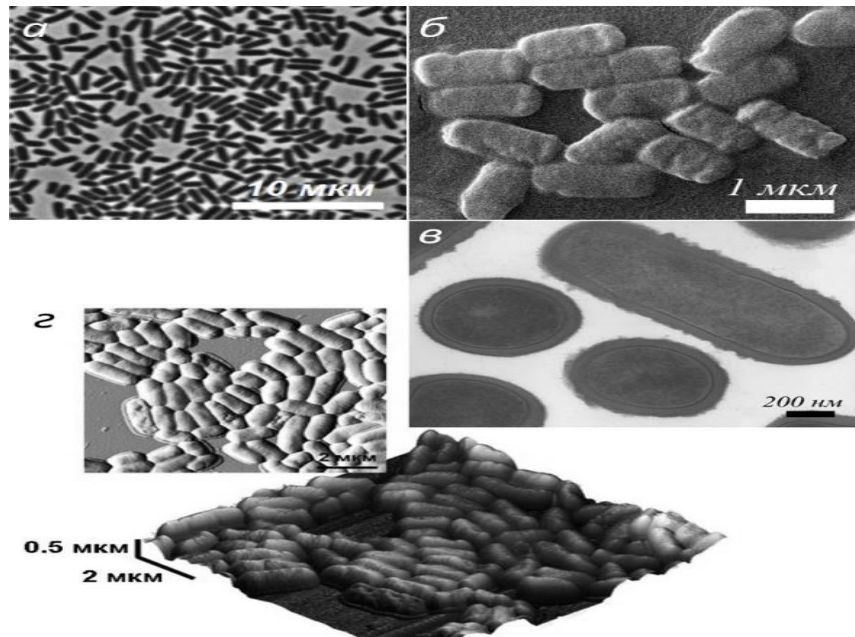


Рис. 11. Мікроскопія клітин *Lactobacillus casei*

Тоді як *L. paracasei* демонструє більш варіабельну морфологію та збільшену довжину клітин (до 4,5 мкм) (рис. 12).

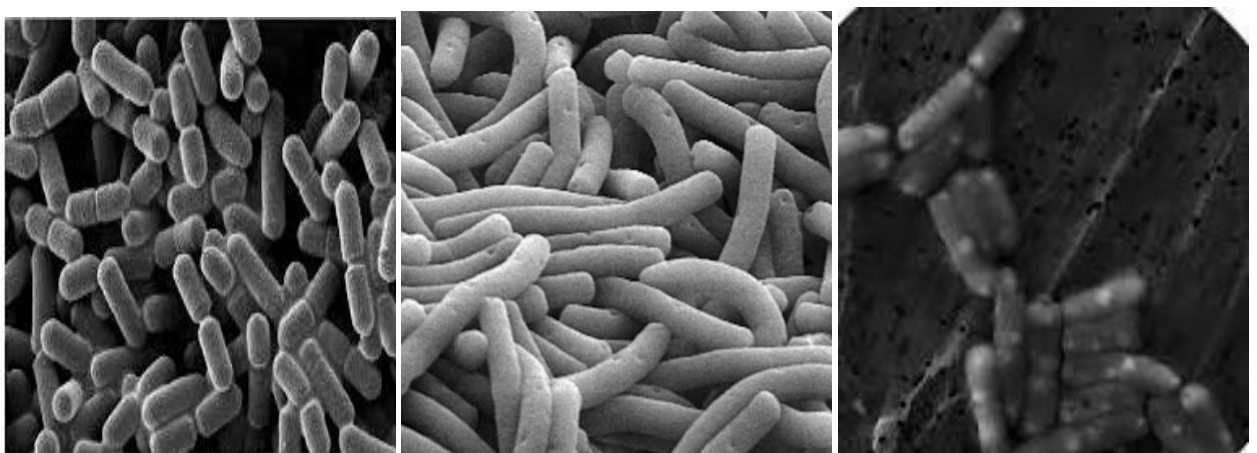


Рис. 12. Мікроскопія клітин *Lactobacillus paracasei*

L. rhamnosus формується переважно у вигляді коротких паличок, схильних до утворення ланцюжків, що є характерною діагностичною ознакою цього виду (рис. 13).

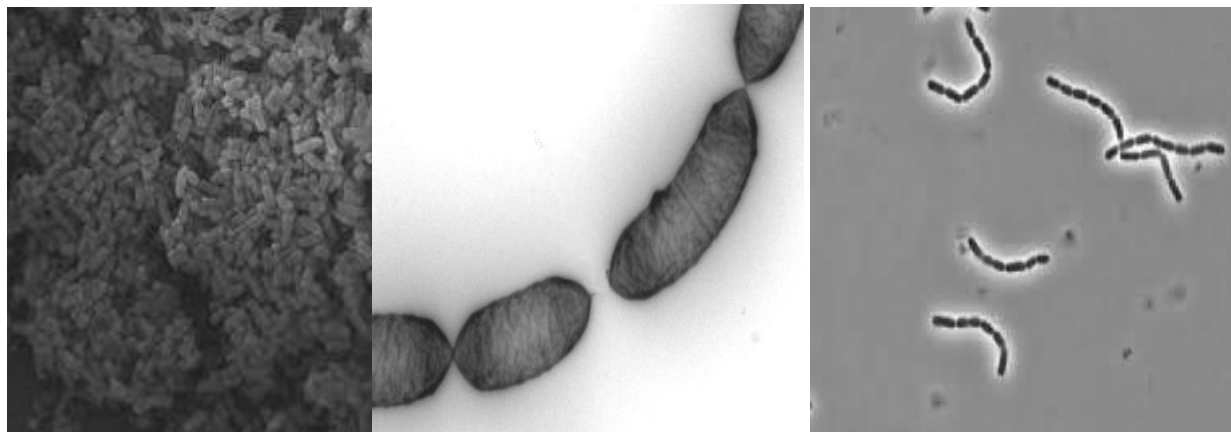


Рис. 13. Мікроскопія клітин *Lactobacillus rhamnosus*

Новий таксон *L. chiayiensis* sp. nov. представлений короткими прямими паличками, розташованими переважно поодиночці або парами (рис. 14).

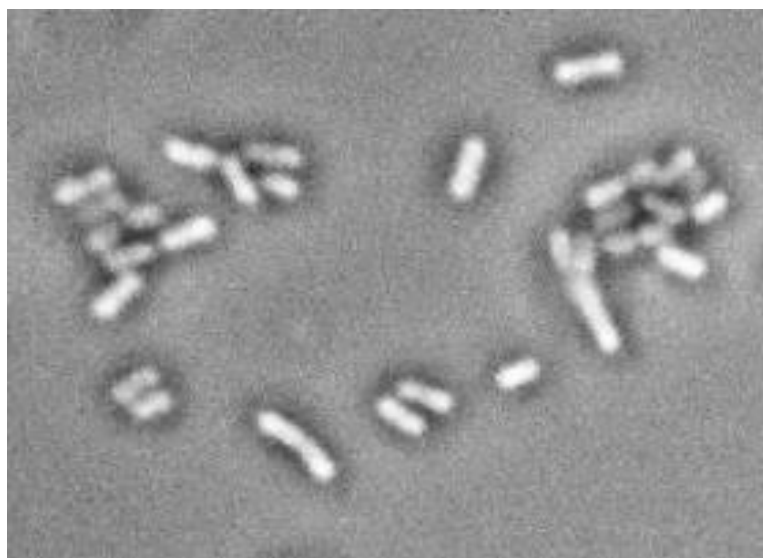


Рис. 14. Мікроскопія клітин *Lactobacillus chiayiensis* sp. nov.

Культуральні властивості також варіюють між видами. Колонії *L. casei* мають кремове забарвлення, округлу форму та виражену опуклість, тоді як *L. paracasei* утворює більші матові колонії. Для *L. rhamnosus* типовими є слизові, блискучі колонії, що відображає його підвищену здатність до синтезу екзополісахаридів. Натомість *L. chiayiensis* sp. nov. утворює невеликі

матові колонії, що зближує його з морфотипом *L. paracasei*, проте з меншим розміром колоній.

Оптимальні умови росту для всіх досліджуваних видів подібні: температурний оптимум становить 30–37 °C, за винятком *L. rhamnosus*, що найінтенсивніше росте при 37 °C. Показник оптимального pH для *L. casei*, *L. paracasei* та *L. chiayiensis sp. nov.* знаходиться в межах 5,5–6,5, тоді як *L. rhamnosus* віддає перевагу слабкокислим умовам із pH 6,0–6,5. Усі досліджувані штами є факультативними анаеробами та здатні розвиватися в умовах обмеженого доступу кисню.

Курім того нами були досліджені мікробіологічні та фізіолого-біохімічні властивості штамів групи *Lactobacillus casei*. Комплексна характеристика мікробіологічних та фізіолого-біохімічних ознак представників групи *Lacticaseibacillus casei* дозволяє чітко розмежувати види *L. casei*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus* та новоописаний *L. chiayiensis sp. nov.*, а також визначити їх технологічний і пробіотичний потенціал.

Так, усі досліджувані види характеризуються гомоферментативним типом метаболізму, що передбачає переважне утворення молочної кислоти як основного продукту ферментації. За каталазною та оксидазною активністю всі штами демонструють негативні реакції, що є типовою ознакою молочнокислих бактерій родини *Lactobacillaceae* та свідчить про їх адаптованість до анаеробних та мікроаерофільних умов (табл. 6.).

Важливою видовою ознакою є тип молочної кислоти, що синтезується. *L. casei* продукує як L-, так і DL-ізомери, тоді як *L. paracasei* характеризується переважно синтезом DL-форми. *L. rhamnosus* має тенденцію до утворення L-молочної кислоти, що пов'язують із його високим пробіотичним потенціалом. Новий вид *L. chiayiensis sp. nov.* демонструє утворення DL-форми, що зближує його з *L. paracasei*.

Порівняння толерантності до кислот і жовчних солей показало, що *L. rhamnosus* є найбільш стійким видом групи. Він здатний витримувати pH до 3,0 та концентрацію жовчних солей до 0,5 %, що забезпечує його високу

виживаність у шлунково-кишковому тракті. Інші види витримують pH 3,5 і мають нижчу жовчну толерантність (0,3–0,4 %), тоді як *L. chiayiensis sp. nov.* не перевищує межу 0,3 %, що вказує на дещо нижчу фізіологічну стресостійкість.

Таблиця 6

**Мікробіологічні та фізіолого-біохімічні властивості штамів групи
*Lactobacillus casei***

Показник	<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Lactobacillus chiayiensis sp. nov.</i>
Тип ферментації	гомофермент ативна	гомофермент ативна	гомофермент ативна	гомофермент ативна
Каталаза	негативна	негативна	негативна	негативна
Оксидаза	негативна	негативна	негативна	негативна
Утворення молочної кислоти	L- та DL-форма	переважно DL	переважно L	DL
Стійкість до кислотності	до pH 3,5	до pH 3,5	до pH 3,0	до pH 3,5
Толерантність до жовчних солей	до 0,3 %	до 0,4 %	до 0,5 %	до 0,3 %
Ферментація лактози	+	+	±	+
Ферментація галактози	+	+	+	+(характерна ознака)
Ферментація мальтози	+	+	+	±
Ферментація рафінози	+	+	—	±
Синтез бактеріоцинів	помірний	високий у деяких штамів	виражений у пробіотичних штамів	недостатньо вивчено
Життєздатність при стресах (кислотних/осмотичних)	висока	висока	дуже висока	середня–висока

Цукролітичні властивості також демонструють видові відмінності. Усі штами ферментують галактозу, проте ферментація лактози варіює: *L. rhamnosus* має змінну здатність (±), що відрізняє його від інших

представників. Характерною ознакою *L. chiayiensis* sp. nov. є стабільна ферментація галактози та часткова здатність до засвоєння рафінози і мальтози. *L. casei* та *L. paracasei* відзначаються ширшим спектром утилізації оліго- та дисахаридів.

Важливою прикладною властивістю є здатність синтезувати бактеріоцини. Найбільш виражений антагоністичний потенціал виявлено у *L. rhamnosus*, особливо серед пробіотичних штамів. *L. paracasei* також демонструє високий бактеріоциногенез у певних ізолятах. *L. casei* характеризується помірним рівнем синтезу, тоді як для *L. chiayiensis* sp. nov. ці дані потребують подальших досліджень.

Загальна оцінка життєздатності за умов кислотного та осмотичного стресу підтверджує високий адаптивний потенціал усіх штамів групи, однак максимальні показники притаманні *L. rhamnosus*, тоді як *L. chiayiensis* sp. nov. демонструє середню або середньо-високу стресостійкість.

Узагальнений аналіз вище зазначених штамів свідчить про високий ступінь їх подібності і їм притаманні спільні морфологічні ознаки: всі вони грампозитивні палички, переважно нерухомі, без утворення спор (рис. 15).

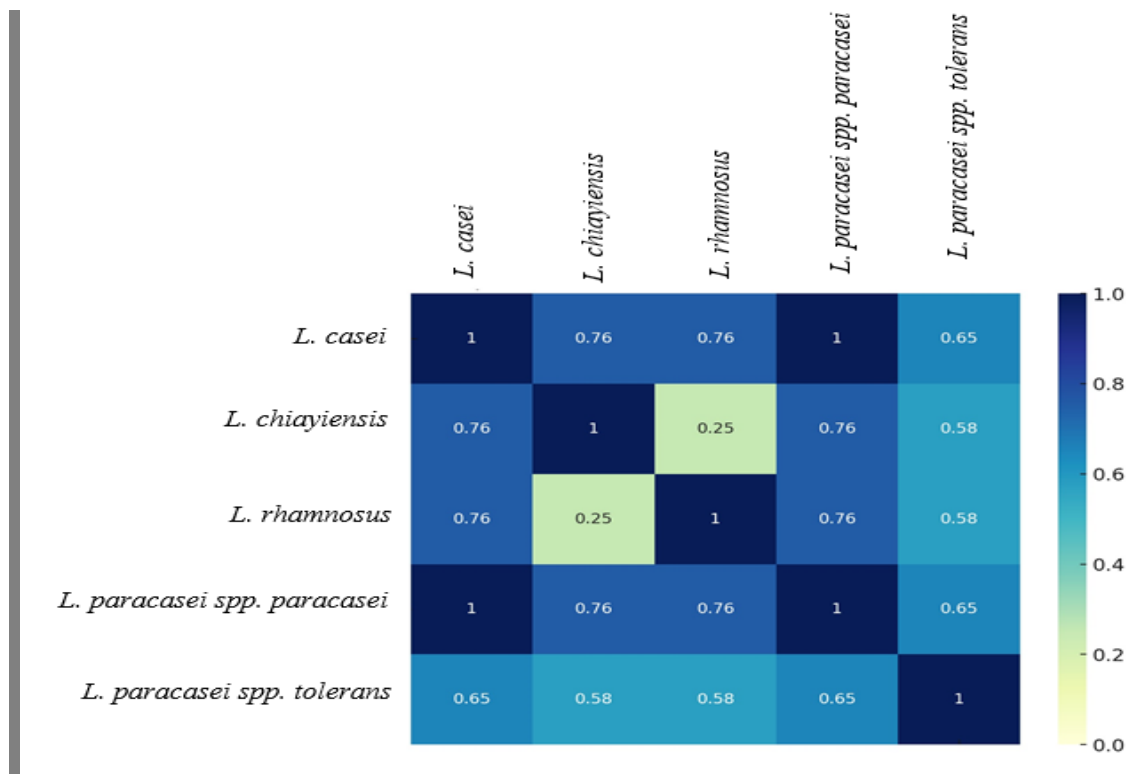


Рис. 15. Матриця схожості видів *Lactobacillus casei*

Клітинні розміри більшості видів варіюють приблизно від 2 до 4 μm у довжину та 0,8–1,0 μm у ширину, хоча для деяких нових видів (наприклад, *L. chiayiensis*) точні дані обмежені. Геноми аналізованих видів становлять близько 2,9–3,0 Мб із GC-вмістом 46–47%, за винятком підвиду *L. paracasei subsp. tolerans*, що має менший геном (~2,38 Мб). Метаболічно ці бактерії здатні до молочнокислої ферментації різних вуглеводів та проявляють різну ступінь стійкості до стресових факторів, таких як низький рН, жовчні солі та технологічні навантаження; підвид *tolerans* вирізняється підвищеною витривалістю, зокрема до пастеризації. Ця подібність зображена у вигляді матриці, як що проілюстровано на рисунку 11 де чим темніший колір, тим більша схожість. Усі види мають пробіотичні та технологічні властивості, проте найбільш добре дослідженими та комерційно застосовуваними є *L. casei*, *L. rhamnosus* і *L. paracasei*, тоді як *L. chiayiensis* є новим видом із потенційними пробіотичними властивостями. Загалом, види групи демонструють генетичну близькість і різняться головним чином специфічними адаптаціями до умов росту та технологічних стресів.

У результаті проведеного порівняльного аналізу встановлено, щоштами групи *Lacticaseibacillus casei* демонструють як спільні родові ознаки, так і виражені міжвидові відмінності, що дозволяють чітко розмежувати *L. casei*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus* та *L. chiayiensis sp. nov.*. Усі види є гомоферментативними, каталаза- та оксидаза-негативними, що підтверджує їх належність до типових молочнокислих бактерій.

Найбільшу кислото- та жовчостійкість проявляє *L. rhamnosus*, що зумовлює його високий пробіотичний потенціал. *L. casei* та *L. paracasei* характеризуються широким спектром ферментації вуглеводів і високою загальною стресостійкістю, що робить їх перспективними для використання у ферментаційних технологіях. Новоописаний *L. chiayiensis sp. nov.* за більшістю показників займає проміжне положення, однак має унікальні вуглеводні профілі, що підтверджує його таксономічну відокремленість.

Загалом встановлені фізіолого-біохімічні характеристики дозволяють диференціювати види всередині групи *L. casei* та визначити їх потенційну функціональність у харчовій, пробіотичній та біотехнологічній промисловості.

3.4. Ферментаційні властивості різних штамів *Lactobacillus casei*

Штами *Lactobacillus casei* – це факультативно анаеробні, грампозитивні бактерії з високою ферментативною активністю щодо широкого спектра вуглеводів. Їхні ферментаційні властивості тісно пов'язані зі штамовими відмінностями, джерелом ізоляції (молочні продукти, рослинна сировина, кишечник) та умовами культивування. Основні продукти ферментації – молочна кислота, оцтова кислота, етанол, діацетил. Більшість штамів є гомоферментативними, однак деякі (*L. casei subsp. rhamnosus*) проявляють гетероферментативну активність, утворюючи CO₂.

Було досліджено процес ферментації молочного середовища, яке готували з порошкового знежиреного молока. Всі штами *L. casei* успішно викликали згортання молока під час ферментації. рН всіх зразків молока знизився нижче 4,0, кількість мікроорганізмів перевищила 8,0 logKOE/г.-1, а кислотність всіх штамів перевищувала 160°Т.

Так, у ході дослідження була змодельована динаміка зниження рН під час ферментації для п'яти штамів *Lactobacillus casei* (*L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. paracasei* та *L. chiyiensis*) на проміжках часу 0, 20, 40, 60 та 96 годин, що відображено у таблиці 7. Таблиця відображає детальну динаміку зміни кислотності (рН) у процесі ферментації чотирьох штамів групи *Lactobacillus casei* протягом 96 годин. Усі культури розпочинали ферментацію з однакового початкового рН 6,80, що дозволяє коректно порівняти інтенсивність їхнього метаболізму та здатність до утворення органічних кислот. У перші 20 годин ферментації найінтенсивніше підкислення

середовища спостерігалось у штамів *L. casei* (рН 5,10), *L. rhamnosus* (5,12) та *L. chiayiensis sp. nov.* (5,15).

Таблиця 7

Динаміка зниження рН під час ферментації штамів *Lactobacillus casei* на проміжках часу 0–96 годин

Штам	Час ферментації				
	0 год	20 год	40 год	60 год	96 год
<i>Lactobacillus casei</i>	6,80	5,10	4,30	3,80	3,51
<i>Lactobacillus paracasei</i>	6,80	6,10	5,50	4,60	3,81
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	6,80	5,12	4,28	3,78	3,50
<i>Lactobacillus chiayiensis sp. nov.</i>	6,80	5,15	4,35	3,82	3,49

Це свідчить про швидку адаптацію клітин до поживного середовища та активний початок молочнокислого бродіння. Натомість штам *L. paracasei* продемонстрував значно повільнішу початкову динаміку зниження рН (6,10), що може бути пов'язано з особливостями його росту або стартовою швидкістю метаболізму.

До 40-ї години всі штами продовжували активне продукування молочної кислоти, причому *L. casei*, *L. rhamnosus* та *L. chiayiensis* мали дуже близькі показники (4,30–4,35). *L. paracasei* на цьому етапі зберігав вищий рівень рН (5,50), що вказує на повільніший вступ до експоненціальної фази ферментації.

На 60-й годині спостерігалась фаза максимальної метаболічної активності бактерій. Три штами – *L. casei*, *L. rhamnosus* та *L. chiayiensis sp. nov.* – демонстрували практично однаковий рН (3,78–3,82), досягаючи рівня глибокого підкислення середовища. *L. paracasei* на цьому етапі теж значно знизив рН до 4,60, проте залишався найменш активним серед досліджених штамів.

До кінця ферментаційного циклу, на 96-й годині, усі штами досягли стабілізації кислотності. Найнижчі значення pH зафіксовано у *L. chiayiensis* sp. nov. (3,49) та *L. rhamnosus* (3,50), що свідчить про їхню найвищу кислотопродукуючу здатність. *L. casei* мав близький показник (3,51). *L. paracasei* завершив ферментацію з pH 3,81, що підтверджує його нижчу інтенсивність кислототворення у порівнянні з іншими штамами.

Загалом представлені дані демонструють характерний для молочнокислих бактерій поступовий перехід від нейтрального до кислого середовища, що є результатом накопичення органічних кислот. Три штами – *L. casei*, *L. rhamnosus* та *L. chiayiensis* sp. nov. – проявили високу й майже однакову ферментативну активність, тоді як *L. paracasei* показав помірну кислототворну здатність, що може мати практичне значення при доборі штамів для конкретних технологічних процесів у харчовій промисловості або пробіотичних продуктах.

Крім того нами була досліджена титрована кислотність ферментованого молока (табл. 8).

Таблиця 8

Зміни титрованої кислотності (°T) штамів *L. casei* протягом ферментації

Штам	Час ферментації				
	0 год	20 год	40 год	60 год	96 год
<i>Lactobacillus casei</i>	0	12,5	18,5	22,9	28,7
<i>Lactobacillus paracasei</i>	0	8,0	12,5	15,4	17,9
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	0	12,4	18,3	22,7	28,7
<i>Lactobacillus chiayiensis</i> sp. nov.	0	12,3	18,2	22,6	28,6

Отримані дані, демонструють динаміку накопичення титрованої кислотності (в °T) у культурах чотирьох штамів молочнокислих бактерій під час стандартного ферментаційного циклу тривалістю 96 годин. Усі культури стартували з нульового рівня титрованої кислотності (0 °T), що відповідає

незміненому початковому середовищу до початку ферментативної активності. Надалі в усіх штамів спостерігається виражене та послідовне зростання $^{\circ}\text{T}$, що відображає накопичення органічних кислот (переважно молочної кислоти) у середовищі внаслідок метаболізму вуглеводів.

На 20-й годині ферментації три штами – *L. casei*, *L. rhamnosus* та *L. chiayiensis sp. nov.* – демонструють швидке наростання кислотності і досягають близько 12–12,5 $^{\circ}\text{T}$ (відповідно 12,5; 12,4; 12,3 $^{\circ}\text{T}$). Це свідчить про інтенсивний початковий метаболізм і швидкий вихід у експоненціальну фазу росту. У той же час *L. paracasei* показує значно повільніший початковий ріст кислотності – лише 8,0 $^{\circ}\text{T}$ на 20-й годині, що може бути пов'язано з повільнішою адаптацією до середовища або відмінностями в метаболічних шляхах та швидкості ферментації.

До 40-ї години усі штами продовжують активне утворення кислот: *L. casei* досягає 18,5 $^{\circ}\text{T}$, *L. rhamnosus* – 18,3 $^{\circ}\text{T}$, *L. chiayiensis* – 18,2 $^{\circ}\text{T}$, тоді як *L. paracasei* підвищується до 12,5 $^{\circ}\text{T}$. Таким чином, до цього часу відзначається чіткий розрив між двома групами: перша (*L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. chiayiensis*) – з високою продуктивністю кислототворення; друга (*L. paracasei*) – із помірною активністю.

На 60-й годині тенденції зберігаються, але темп наростання $^{\circ}\text{T}$ у трьох активніших штамів прискорюється: *L. casei* – 22,9 $^{\circ}\text{T}$, *L. rhamnosus* – 22,7 $^{\circ}\text{T}$, *L. chiayiensis* – 22,6 $^{\circ}\text{T}$. *L. paracasei* також продовжує зростання, але з відставанням – 15,4 $^{\circ}\text{T}$. Це свідчить про те, що фаза найінтенсивнішого утворення кислоти триває приблизно між 20 і 60 годинами, після чого метаболізм спрямовується на завершальний етап накопичення кислот.

Кінцеві значення на 96-й годині ілюструють максимально досягнутий рівень титрованої кислотності за обраний період: *L. casei* і *L. rhamnosus* мають найвищі показники – по 28,7 $^{\circ}\text{T}$, *L. chiayiensis* – 28,6 $^{\circ}\text{T}$, тоді як *L. paracasei* зупиняється на 17,9 $^{\circ}\text{T}$. Високі кінцеві значення $^{\circ}\text{T}$ у трьох перших штамів свідчать про їх потужний кислотопродукуючий потенціал і здатність довготривало накопичувати значну кількість органічних кислот. Нижчий

кінцевий показник *L. paracasei* вказує на обмежену здатність до кислототворення за тих самих умов або на раніше настання гальмування активності (через обмеження субстрату, накопичення метаболітів або інші фактори).

Отже отримані дані свідчать про швидкий початковий ріст кислотності у трьох штамів (*L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. chiayiensis*) із піковою активністю в інтервалі 20–60 годин, тоді як *L. paracasei* має уповільнену кінетику.

Таким чином, встановлено, чітку різницю у кислотопродукуванні серед досліджених штамів: *L. casei*, *L. rhamnosus* і *L. chiayiensis* *sp. nov.* демонструють високу і подібну досягнуту титровану кислотність, тоді як *L. paracasei* має суттєво нижчу кінцеву кислотність та повільнішу кінетику ферментації. Ці відмінності мають практичне значення при доборі штамів для конкретних ферментаційних технологій.

Також нами було досліджено зміни кількості життєздатних клітин чотирьох штамів групи *Lactobacillus casei* протягом 96-годинної ферментації. Показники наведено у логарифмічному вираженні колонієутворюючих одиниць ($\log \text{КУО} \cdot \text{г}^{-1}$), що дозволяє точно оцінити інтенсивність росту та швидкість накопичення біомаси в різні часові точки (табл. 9).

Таблиця 9

Кількість життєздатних клітин штамів *L. casei* під час ферментації, $\log \text{КУО} \cdot \text{г}^{-1}$

Штам	Час ферментації				
	0 год	20 год	40 год	60 год	96 год
<i>Lactobacillus casei</i>	6,0	7,2	8,0	8,7	8,88
<i>Lactobacillus paracasei</i>	6,0	7,0	8,0	8,8	8,99
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	6,0	7,3	8,1	8,8	8,94
<i>Lactobacillus chiayiensis</i> <i>sp. nov.</i>	6,0	7,2	8,0	8,7	8,92

У вихідний момент (0 год) кількість життєздатних клітин у всіх штамів однакова і становить $6,0 \log \text{КУО} \cdot \text{г}^{-1}$, що свідчить про стандартизований

початковий інокулюм та однакові стартові умови. Уже на 20-й годині спостерігається активна фаза росту у всіх штамів: *L. casei* і *L. chiayiensis* sp. nov. підвищують чисельність до $7,2 \log \text{ КУО} \cdot \text{г}^{-1}$, *L. rhamnosus* – до $7,3 \log \text{ КУО} \cdot \text{г}^{-1}$, тоді як *L. paracasei* має дещо нижчий показник ($7,0 \log \text{ КУО} \cdot \text{г}^{-1}$), що вказує на відмінності в швидкості виходу у лог-фазу росту.

На 40-й годині значення чисельності життєздатних клітин стають вирівняними між штамми: всі штами досягають рівня $8,0\text{--}8,1 \log \text{ КУО} \cdot \text{г}^{-1}$, що свідчить про інтенсивну експоненціальну фазу росту та ефективне засвоєння субстратів. *L. rhamnosus* демонструє найвищий показник ($8,1 \log \text{ КУО} \cdot \text{г}^{-1}$), що може свідчити про швидший метаболізм або кращу адаптацію до ферментаційного середовища.

На 60-й годині всі штами виходять на пізню лог-фазу або межують зі стаціонарною: *L. casei* та *L. chiayiensis* досягають $8,7 \log \text{ КУО} \cdot \text{г}^{-1}$, *L. rhamnosus* і *L. paracasei* – $8,8 \log \text{ КУО} \cdot \text{г}^{-1}$. Це свідчить про завершення активного росту і перехід до стаціонарної фази, у якій подальше збільшення чисельності клітин відбувається повільніше.

Кінцеві дані (96 год) демонструють стабілізацію чисельності та максимальні значення життєздатних клітин, яких досягають штами протягом ферментації. Найвищі показники спостерігаються у *L. paracasei* ($8,99 \log \text{ КУО} \cdot \text{г}^{-1}$), *L. rhamnosus* ($8,94 \log \text{ КУО} \cdot \text{г}^{-1}$) та *L. chiayiensis* sp. nov. ($8,92 \log \text{ КУО} \cdot \text{г}^{-1}$). *L. casei* має дещо нижче, але близьке значення – $8,88 \log \text{ КУО} \cdot \text{г}^{-1}$. Незначна різниця між штамми (менше $0,2 \log$) свідчить про високий загальний рівень життєздатності всієї групи *L. casei* після завершення ферментаційного циклу.

Отже, усі штами характеризувалися подібною кінетикою росту та високою життєздатністю на завершальному етапі. Найінтенсивніший приріст життєздатних клітин спостерігався у період 20–60 год – фаза активного розмноження. *L. paracasei* та *L. rhamnosus* демонстрували трохи вищі кінцеві показники, що може свідчити про більшу стабільність у кислих умовах, які формуються наприкінці ферментації. *L. chiayiensis* sp. nov. показував

динаміку, подібну до класичних штамів *L. casei*, що підтверджує його перспективність як технологічного ізоляту.

Також нами був наданий порівняльний ферментаційний профіль штамів групи *Lactobacillus casei* який відображає порівняльні характеристики чотирьох штамів групи *Lactobacillus casei* за ключовими ферментаційними показниками, що характеризують інтенсивність кислотоутворення, здатність до зниження рН, накопичення титрованих кислот та життєздатність клітин у процесі тривалої ферментації.

Першим показником є швидкість зниження рН у період 0–96 год, яка визначає інтенсивність початкового та тривалого кислотоутворення. Три штами – *L. casei*, *L. rhamnosus* і *L. chiayiensis sp. nov.* – демонструють високу швидкість зниження рН, що свідчить про їх здатність швидко закислювати середовище вже на ранніх етапах ферментації. Натомість *L. paracasei* характеризується низькою швидкістю зниження рН, що підтверджує його повільніший метаболізм і потенційно м'якший профіль ферментації. Кінцеві значення рН також відображають ці тенденції: найнижчі показники (~3.49–3.51) спостерігаються у *L. casei*, *L. rhamnosus* і *L. chiayiensis*, тоді як *L. paracasei* формує значно вищий кінцевий рН (3.81), свідчачи про меншу кислотність сформованого продукту (табл. 10).

Інтенсивність накопичення титрованих кислот, що є прямим індикатором кислотоутворення, також показує чітке групування штамів. *L. casei*, *L. rhamnosus* і *L. chiayiensis* демонструють дуже високі кінцеві значення (28.6–28.7 °Т), які практично збігаються, що вказує на подібну ефективність метаболічних процесів. *L. paracasei* з рівнем 17.9 °Т значно поступається іншим штамам, що підтверджує його менш інтенсивну ферментаційну активність. Час піку кислототворення також відрізняється: три високопродуктивні штами досягають максимальних показників у період 20–60 год, тоді як *L. paracasei* демонструє зміщений і більш розтягнутий пік (40–96 год), що свідчить про повільніше наростання кислотності.

Таблиця 10

Порівняльний ферментаційний профіль штамів групи *Lactobacillus casei*

Показник	<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Lactobacillus chiayiensis sp. nov.</i>
Швидкість зниження рН (0–96 год)	висока	низька	висока	висока
Кінцевий рН	3,51	3,81	3,50	3,49
Інтенсивність накопичення титрованих кислот (°Т)	висока (28,7)	низька (17,9)	висока (28,7)	висока (28,6)
Пік кислототворення, год	20–60	40–96	20–60	20–60
Кількість життєздатних клітин на 96 год (log КУО·г ⁻¹)	8,88	8,99	8,94	8,92
Швидкість росту клітин (20–40 год)	висока	помірна	висока	висока
Стійкість до накопичення кислот	висока	середня	висока	висока
Загальна ферментаційна активність	стабільно висока	помірна	стабільно висока	стабільно висока

Кількість життєздатних клітин на 96-й годині у всіх штамів залишається високою – від 8.88 до 8.99 log КУО·г⁻¹. Незважаючи на різну кислотність продукту, усі штами характеризуються високою життєздатністю у кінці ферментації, що свідчить про їхню добру кислотостійкість та адаптивність. Найвищу життєздатність демонструє *L. paracasei*, що вказує на його перевагу в стабільності при помірному підкисленні середовища.

Швидкість росту клітин у проміжку 20–40 год – ключовий показник лог-фази – також демонструє суттєву різницю між штамами. Три штами (*L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. chiayiensis*) характеризуються високими темпами нарощування клітинної маси, що підтверджує їх високу метаболічну активність. *L. paracasei* має помірну швидкість росту, що збігається з його менш вираженим кислототворенням.

Стійкість до накопичення кислот – критичний показник для технологічного застосування. *L. casei*, *L. rhamnosus* і *L. chiayiensis* демонструють високу стійкість, успішно розмножуючись навіть при значному зниженні рН та високій титрованій кислотності. *L. paracasei* має середню стійкість, що відповідає його помірному метаболізму та вищому кінцевому рН.

Узагальнюючи показники, загальна ферментаційна активність трьох штамів (*L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. chiayiensis*) оцінюється як стабільно висока, що робить їх придатними для інтенсивних ферментаційних процесів, таких як виробництво кисломолочних продуктів з низьким рН, ферментованих напоїв, концентрованих заквасок. *L. paracasei* має помірну ферментаційну активність і може бути рекомендований для продуктів із м'яким, менш кислим смаком або для композиційних заквасок, де потрібне збалансоване кислототворення.

Таким чином, отримані дані демонструють чітку різницю ферментаційних профілів між штамами, дозволяючи підібрати оптимальний біотехнологічний варіант залежно від цілей виробництва, бажаного смакового профілю та вимог до життєздатності клітин у кінцевому продукті.

3.5. Економічна частина

Оцінка економічної ефективності досліджень штамів групи *Lacticaseibacillus casei* є важливою складовою обґрунтування їхнього практичного використання у харчовій, пробіотичній та біотехнологічній

промисловості. Оскільки властивості окремих штамів – такі як інтенсивність ферментації, швидкість зниження рН, продуктивність кислототворення та життєздатність клітин – безпосередньо впливають на тривалість технологічних процесів, стабільність готової продукції та витрати виробництва, визначення економічної доцільності їх застосування дозволяє оптимізувати технологічні режими та підвищити рентабельність виробництва. Аналіз економічних показників дає можливість встановити, які штами забезпечують найнижчі енергетичні та часові витрати, формують більш конкурентоспроможний продукт і сприяють підвищенню загальної ефективності біотехнологічних процесів [45].

Економічна ефективність використання окремих штамів оцінювалася з урахуванням таких параметрів: ферментаційна активність (швидкість зниження рН, кислотність, час ферментації); виживаність у стресових умовах (рН, жовчні солі); стабільність культури при виробництві та зберіганні; витрати на культивування та підтримання штаму [44].

Ці параметри визначають собівартість виробництва, рентабельність та доцільність впровадження окремих штамів у харчові технології.

У таблиці 11 представлено порівняльну оцінку основних економічно значущих характеристик штамів *L. casei*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus* та *L. chiayiensis* sp. nov., які визначають їх доцільність та ефективність використання у сучасних біотехнологічних процесах, зокрема у виробництві ферментованих харчових продуктів, пробіотичних препаратів та заквасок. Наведені параметри охоплюють сумарний вплив технологічних, мікробіологічних та ринкових чинників на економічний результат виробництва.

Порівняння демонструє, що *L. casei* характеризується високою швидкістю ферментації при збереженні стабільності культивування, що сприяє скороченню тривалості виробничого циклу на 10–15 %. Це забезпечує оптимальний баланс між собівартістю і виходом готової продукції, формуючи рентабельність на рівні 18–22 %.

Таблиця 11

**Економічна ефективність проведених досліджень штамів групи
*Lactobacillus casei***

Показник	<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Lactobacillus chiayiensis sp. nov.</i>
Швидкість ферментації	висока (скорочення часу виробництва на 10–15 %)	середня	висока	висока
Стабільність культури при масштабуванні	висока	висока	дуже висока	середня
Стійкість до стресів (кислотність/жовч)	висока	висока	дуже висока підвищення виходу життєздатних клітин	середня
Вартість виробництва на 1 л ферментату, умов. од.	1,00	0,85	1,20	1,05
Ринкова ціна продуктів на основі штаму	середній сегмент	середній сегмент	високий/преміум	середній–високий
Очікувана рентабельність, %	18–22	22–28	25–35	16–20

У випадку *L. paracasei* спостерігається найнижча собівартість ферментативного процесу серед досліджених штамів, що зумовлено невибагливістю до параметрів середовища, високою стресостійкістю та стабільністю популяції. Це робить штаму одним із найбільш економічно вигідних: рентабельність сягає 22–28 %, а витрати на культивування знижені на 10–15 % порівняно з *L. casei*.

Штам *L. rhamnosus* демонструє найвищу комерційну цінність завдяки вираженим пробіотичним властивостям та підвищеній толерантності до кислотного і жовчного стресу. Незважаючи на дещо вищу собівартість ($\approx 1,20$ умов. од.

L. chiayiensis sp. nov., новоописаний вид, демонструє середні технологічні та економічні показники. Хоча він характеризується високою швидкістю ферментації, його стабільність при масштабуванні та толерантність до стресових чинників є нижчими порівняно з іншими представниками групи. Це зумовлює помірну рентабельність (16–20 %) і певні обмеження щодо широкого промислового використання.

Найвищий рівень рентабельності (25–35 %) продемонстрував *L. rhamnosus*, що зумовлено його винятковою стійкістю до технологічних стресів, високою життєздатністю клітин та можливістю використання у виробництві пробіотичних продуктів преміум-класу. Незважаючи на підвищену собівартість (1,20 ум. од./л), його ринкова цінність повністю компенсує виробничі витрати.

L. paracasei визначено як найбільш економічно збалансований штам. Він має найнижчу собівартість виробництва (0,85 ум. од./л) та високі показники стабільності, що забезпечує рентабельність 22–28 %. Завдяки оптимальному співвідношенню витрат і продуктивності цей штам є найбільш вигідним для масового виробництва кисломолочних та ферментованих продуктів середнього цінового сегменту.

Отже, економічний аналіз проведених досліджень показує, що найбільш економічно вигідним штамом для промислового застосування є *L. Paracasei* при застосування якого можна досягти найвищого рівня рентабельності – 22-28%, тоді як *L. rhamnosus* займає провідні позиції у нішевих напрямках виробництва продуктів преміум-класу, пов'язаних із виробництвом функціональних продуктів та пробіотиків – 25-35%.

РОЗДІЛ 4

ОХОРОНА ПРАЦІ

Охорона праці на ПрАТ «Лакталіс-Миколаїв» спрямована на отримання безпечних і здорових умов праці працівників лабораторій і дослідницьких ділянок. Усі заходи з охорони праці ПрАТ «Лакталіс-Миколаїв» регулюються нормативно-правовими актами України, зокрема Законом України «Про охорону праці», а також «Правилами охорони праці в лабораторії» та іншими галузевими стандартами. Підприємство також регулярно оновлює внутрішні протоколи безпеки відповідно до сучасних вимог та рекомендацій [61].

Відповідальність за розробку та впровадження заходів щодо запобігання нещасним випадкам і професійним захворюванням покладається на головного інженера з охорони праці на ПрАТ «Лакталіс-Миколаїв». Основні обов'язки включають регулярні перевірки робочих місць, моніторинг стану обладнання, забезпечення дотримання стандартів безпеки та підготовку звітів з охорони праці. Головний інженер також проводить оцінку ризиків, розробляє навчальні програми та налаштовує інструкції з безпеки відповідно до конкретних потреб кожної лабораторії та відділу в центрі [61].

Усі працівники ПрАТ «Лакталіс-Миколаїв», у тому числі новоприйняті, проходять декілька видів інструктажів з техніки безпеки: вступний, на робочому місці, підвищення кваліфікації, позаплановий та цільовий. Вступний інструктаж охоплює загальні вказівки з безпеки та вимоги до поведінки, тоді як навчання на робочому місці ознайомлює працівників з конкретними заходами безпеки для їхніх ролей. Підготовка з підвищення кваліфікації закріплює ці знання, забезпечуючи постійне дотримання стандартів безпеки [48].

Лабораторія – це організація або її структурний підрозділ, які проводять експериментальні, діагностичні або виробничі роботи з

патогенними біологічними засобами. Працівник лабораторії – це будь-яка особа, яка займається діяльністю в лабораторії, включаючи осіб, які беруть участь у дослідженнях, а також тих, хто відповідає за обслуговування, очищення та утилізацію відходів [48].

Особливу увагу слід приділяти безпеці працівників лабораторії. У кожного співробітника повинно бути виділене робоче місце. Перед початком роботи обов'язково одягнути спеціальний одяг, який зберігати в індивідуальних шафах окремо від верхнього одягу. Тип обраного захисного костюма та частота його зміни залежать від характеру завдань, що виконуються. Важливо пам'ятати, що спеціальний одяг не можна носити за межами лабораторії, особливо в адміністративних приміщеннях і зонах загального користування [18].

Під час роботи зі скляним посудом необхідно дотримуватися особливих протоколів безпеки. Під час роботи зі скляними інструментами або з'єднання їх частин бажано захищати руки рушником. Якщо є необхідність розбити скляні пробірки, пробірку слід тримати лівою рукою біля зони з нанесеними балами. Закупорюючи колбу або пробірку пробкою, посудину слід тримати за верхнє горлечко близько до місця вставлення пробки, також використовуючи рушник, щоб захистити руку. Крім того, дуже важливо розплавити і зволожити кінці трубок і стрижнів водою перед тим, як вставити їх в гуму. При плавленні трубок для безпеки слід використовувати тримачі [18].

Щоб запобігти травмам під час роботи зі склом, слід вживати певних запобіжних заходів. Наприклад, маленькі скляні трубки слід розбивати після надрізу напилком, захищаючи руки рушником. Вставляючи скляні трубки в гумові пробки або шланги, важливо змочити трубку та внутрішні краї шланга водою або гліцерином. Гострі краї трубок також слід оплавити, щоб уникнути порізів. Під час складання склотари доцільно працювати на обладнаних прокладках, наприклад поліуретанових або гумових. Пробірки

або термометри слід тримати ближче до кінця, який вставляється в пробку, а не натискати пробку на долоню [8].

Під час нагрівання рідин у пробірках або інших ємностях важливо дотримуватися обережності, використовуючи спеціальні тримачі. Не можна використовувати відкритий вогонь для нагрівання сильнодіючих отруйних речовин; для цієї мети слід використовувати лише круглодонні колби. Всі роботи з концентрованими кислотами і основами необхідно проводити у витяжній шафі в захисних окулярах, рукавичках і фартухах. Кислоти слід завжди додавати у воду, а не навпаки, щоб запобігти небезпечним реакціям. Особливу обережність слід дотримуватися при роботі з їдкими речовинами, оскільки неправильне використання може призвести до серйозних наслідків [48].

Під час роботи з легкозаймистими матеріалами, такими як ефір, бензин, бензол, ацетон і спирт, необхідно дотримуватися суворих правил. Усі роботи проводити у витяжній шафі з увімкненою системою вентиляції, а газові пальники та відкриті нагрівальні прилади повинні бути вимкнені. Нагрівання легкозаймистих речовин слід проводити за допомогою піщаної бані або водяної бані із закритим електропідігрівом. Забороняється доручати роботи з легкозаймистими речовинами недосвідченому персоналу, а також запалювати сірники, палити та працювати з іскристим обладнанням під час роботи в приміщенні [8].

Після завершення роботи з небезпечними матеріалами важливо привести робоче місце в порядок, належним чином зберігати залишки небезпечних речовин і ретельно вимити руки з милом. Додатково прополоскати рот водою [18].

РОЗДІЛ 5

БЕЗПЕКА В НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЯХ

Біологічні лабораторії повинні бути оснащені аптечкою екстреної медичної допомоги для ліквідації наслідків нещасних випадків. Кожна лабораторія повинна мати аптечку, яка містить спирт 70 %, альбуцид, перекис водню, йод, калію перманганат по 0,05 г (три штуки), дози дезінфекційних засобів (зберігаються окремо), стерильну дистильовану воду, набір специфічних антибіотиків, піпетки, шприц для приготування розчинів антибіотиків, ножиці, накладки на пальчики (одна-дві на одного працівника), гумові рукавички, лейкопластирі, перев'язувальні матеріали. Термін придатності та комплектність комплекту повинні бути перевірені призначеним відповідальним працівником [48].

У разі нещасного випадку під час роботи з інфекційними матеріалами (наприклад, розбиття скляного посуду, розпилення зі шприца чи піпетки, зараження тварин) персонал, присутній під час інциденту, повинен негайно продезінфікувати територію, обладнання та предмети, які можуть бути заражені, були заражені, а також проводити самотезинфекцію. Для усунення наслідків інциденту слід застосувати різні методи дезінфекції. Поверхні, забруднені інфекційними матеріалами, необхідно змочити дезинфікуючим розчином або накрити тканиною, змоченою в розчині, щоб повністю закрити забруднену ділянку. Забруднені стіни, бічні поверхні меблів, інвентар та обладнання обробляти тампонами, змоченими дезинфікуючими розчинами. Усі забруднені предмети та інструменти необхідно занурити в ємність з дезинфікуючим розчином, а забруднений одяг зняти та замочити в ньому [42].

Завідувач лабораторією зобов'язаний повідомити про подію та вжиті заходи керівництву установи. Необхідність медичного спостереження визначає керівник закладу. Працівники зобов'язані повідомляти начальника відділення про всі нещасні випадки та помилки, що виникають під час

роботи з біологічним матеріалом. Завідувач лабораторією має право тимчасово відсторонити від роботи з біологічними препаратами осіб, які порушують ці правила або проявляють необережність, до прийняття рішення керівництвом установи. Працівники, які систематично порушують правила, за вказівкою керівника закладу можуть бути відсторонені від роботи з біологічним матеріалом [18].

У разі аварії, пов'язаної з розбиттям контейнерів з хімічними речовинами, необхідно негайно нейтралізувати хімікати, а потім приступати до очищення. До завершення цих дій персоналу забороняється залишати територію без дозволу керівника лабораторії, якщо їх подальша присутність не становить ризику для здоров'я. Для розлиття нетоксичних розчинів достатньо протерти поверхню столу ганчіркою в гумових рукавичках, після чого ганчірку ретельно випрати, а стіл і рукавички очистити [17].

Усі дезінфекційні процедури проводити в захисних костюмах медичним персоналом або лаборантами під наглядом лікаря. Молодший медичний персонал залучати до прибирання тільки після завершення процесу дезінфекції. Після закінчення дезінфекції персонал повинен зняти та здати засоби індивідуального захисту (ЗІЗ) та спецодяг на дезінфекцію та прийняти душ [34].

У разі виникнення пожежі або виділення отруйних парів працівник повинен негайно вимкнути всі електроприлади та обладнання, якщо це безпечно, щоб запобігти подальшому зростанню небезпеки. Коли буде підтверджено, що загроза мінімальна, працівник повинен повідомити про інцидент своєму безпосередньому керівнику, вказавши точне місце та характер проблеми. Це сприятиме швидкому реагуванню та здійсненню необхідних заходів для вирішення ситуації. У разі необхідності працівник несе відповідальність за охорону небезпечної зони, щоб запобігти доступу іншого персоналу та уникнути паніки [42].

У разі витоку хімічних речовин або біологічного зараження працівник повинен негайно надіти засоби індивідуального захисту, такі як респіратор,

рукавички та захисний халат, щоб забезпечити додатковий захист від небезпечних речовин. Якщо співробітник помічає, що колега постраждав, важливо надати першу допомогу, але тільки якщо це не загрожує безпеці співробітника, який надав допомогу. У разі потреби слід викликати медичний персонал або відправити потерпілого в медпункт [17].

У разі виникнення пожежі працівники повинні пам'ятати про правильні способи пожежогасіння. Вкрай важливо використовувати вогнегасники, призначені для гасіння певних типів пожеж, і ніколи не спрямовувати потік на людей. Якщо полум'я почало поширюватися, перш за все вимкніть вентиляцію та електрику в приміщенні, перш ніж намагатися загасити пожежу за допомогою первинних засобів пожежогасіння, якщо це не загрожує життю [12].

При виявленні під час роботи шкідливих газів або нестерпних запахів працівник повинен покинути приміщення, відкривши вікна для провітрювання, і негайно повідомити про ситуацію керівництво. Важливо пам'ятати, що забезпечення власної безпеки завжди є головним пріоритетом для збереження життя. Якщо загроза стає надто великою, евакуацію слід проводити за встановленими маршрутами та інструкціями [48].

Після вирішення небезпечної ситуації працівник повинен повідомити керівництво про інцидент для ретельного аналізу та розробки заходів для запобігання подібним випадкам у майбутньому. Документування інциденту є важливою частиною безпеки лабораторії, оскільки воно може допомогти виявити потенційні проблеми та покращити існуючі протоколи безпеки [48].

РОЗДІЛ 6

ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ

Вивчення умов навколишнього середовища є необхідною складовою забезпечення екологічної безпеки на підприємствах харчової промисловості, зокрема на ПрАТ «Лакталіс-Миколаїв». Аналіз показників повітря, води, ґрунту та рівня шумового й хімічного забруднення дозволяє вчасно виявляти потенційні ризики, пов'язані з технологічними процесами переробки молока. Це сприяє розробці ефективних заходів щодо зменшення негативного впливу на довкілля та підвищенню екологічної відповідальності підприємства. Систематичне спостереження за станом навколишнього середовища також дає змогу оптимізувати використання ресурсів і запроваджувати більш екологічно безпечні технології. На ПрАТ «Лакталіс-Миколаїв» такі дослідження є важливою частиною системи екологічного моніторингу, що відповідає сучасним стандартам сталого виробництва. У результаті утворюються не лише безпечні умови роботи персоналу, а й мінімізація впливу виробництва на екосистему регіону [56].

Миколаївський район розташований у південній частині Миколаївської області, в межах Причорноморської низовини. Цей район відноситься до південної агрокліматичної зони, що характеризується континентальним теплим і помірно сухим кліматом. За особливістю природних умов територія області належить до степової зони. Клімат помірно-континентальний з м'якою малосніжною зимою і жарким посушливим літом. Пересічна температура січня – $-4,5^{\circ}\text{C}$, липня – $+22,2^{\circ}\text{C}$. Річна кількість опадів коливається від 330 мм на півдні до 450 мм на півночі області. Висота снігового покриву 9-11 см. Природні та кліматичні умови області сприятливі для інтенсивного високоефективного розвитку сільського господарства [56].

Рівень розораності сільськогосподарських угідь на території Миколаївської області демонструє значну варіативність і залежно від району

становить приблизно 60–85 %. Ґрунтовий покрив характеризується виразною просторовою диференціацією: у північних районах переважають типові чорноземи, тоді як у південній частині вони поступово переходять у південні чорноземи, темно-каштанові ґрунти, а також слабо- та середньосолонцюваті їх різновиди. У регіоні трапляються солонці, солонцюгато-осолоділі ґрунти, лучно-болотні утворення та торфовища. Для прирічкових та прибережних зон характерні піщані й супіщані ґрунти, місцями зі схильністю до формування рухомих пісків [65].

Вміст органічної речовини (гумусу) є ключовим індикатором родючості ґрунтів регіону. За результатами багаторічних моніторингових спостережень, проведених Миколаївським обласним державним проектно-технологічним центром охорони родючості ґрунтів і якості продукції «Облдержродючість», середній показник гумусу по області становить приблизно 2,9 %. Найвищі значення фіксуються у північних та північно-західних районах, де поширені звичайні чорноземи з вмістом гумусу на рівні 3,3–4,1 %. У структурі ґрунтового покриву зростає частка ґрунтів із підвищеним рівнем гумусу, яка нині становить близько 38,4 %, за середнього показника 22,2 % [56].

Окрім гумусового стану, важливим агрохімічним параметром є кількість рухомих фосфатів. Максимальні концентрації рухомого фосфору виявлені на територіях Баштанського та Миколаївського районів, що пов'язано з інтенсивним використанням орних земель під культурні посіви та систематичним внесенням добрив у фермерських господарствах [56].

ПрАТ «Лакталіс-Миколаїв» розташований у місті Миколаєві південного регіону України. Він розташований у районі, на який сильно впливає міська інфраструктура, поруч розташовані житлові зони. Така близькість потенційно може наражати лабораторію на підвищений ризик факторів навколишнього середовища, таких як якість повітря та забруднення води [25].

Основні ризики, що стосуються ПрАТ «Лакталіс-Миколаїв», пов'язані з факторами навколишнього середовища, безпеки та здоров'я через близькість лабораторії до міських та природних зон. Одним із значних ризиків є забруднення повітря. Неналежне поводження з хімічними речовинами може призвести до виділення шкідливих парів або часток у повітря, що вплине на здоров'я як працівників, так і мешканців поблизу. Крім того, забруднення води викликає занепокоєння в разі розливу або витоку небезпечних речовин, особливо тому, що підприємство розташоване поблизу водойм. Такі розливи можуть поставити під загрозу місцеве водне життя та забруднити джерела питної води [25].

Основне державне регулювання викидів в атмосферне повітря здійснюється через систему обов'язкових технічних нормативів і стандартів, серед яких провідну роль відіграють ДСТУ, Державні санітарні норми та гранично допустимі концентрації забруднювальних речовин. На їх основі встановлюються вимоги до якості повітря та допустимих рівнів викидів [65].

Ключовими механізмами контролю є дозвільна система на здійснення діяльності, пов'язаної з викидами, проведення державної екологічної експертизи та регулювання розміщення об'єктів, які потенційно можуть забруднювати атмосферу. Також застосовується встановлення санітарно-захисних зон навколо підприємств, що забезпечує обмеження впливу джерел викидів на довкілля та населення [65].

Діяльність підприємства також може вплинути на місцеве біорізноманіття, особливо якщо в навколишнє середовище ненавмисно потраплять небезпечні хімікати. Це може мати наслідки для навколишніх охоронюваних природних територій з потенційним довгостроковим екологічним впливом. Існує також ризик випадкового впливу на персонал лабораторії, який може контактувати з небезпечними речовинами або хімікатами. Ці інциденти можуть статися через несправність обладнання, неправильне зберігання або порушення протоколів безпеки, створюючи

ризик для здоров'я працівників і потенційно впливаючи на територію навколо [43].

На підприємствах молокопереробної промисловості, таких як ПрАТ «Лакталіс-Миколаїв», важливим аспектом екологічної безпеки є не лише контроль виробничих процесів, а й діяльність лабораторій, які здійснюють моніторинг якості сировини, готової продукції та стану навколишнього середовища. Саме лабораторні підрозділи відіграють ключову роль у виявленні потенційних джерел забруднення, контролі за дотриманням санітарно-гігієнічних норм і оцінці ефективності заходів з охорони довкілля. У лабораторіях проводяться дослідження повітря, води, стічних вод, а також перевірка чистоти обладнання та поверхонь виробничих приміщень. Таким чином, екологічний моніторинг, здійснюваний лабораторією, є невід'ємною частиною системи управління безпекою підприємства, що забезпечує не лише стабільну якість продукції, а й мінімальний вплив на навколишнє середовище [43].

По-перше, щодо забруднення повітря та розливів хімічних речовин Закон України про управління відходами (№ 2320-IX) [64] встановлює вимоги щодо безпечного поводження, транспортування та утилізації небезпечних речовин. Це включає в себе класифікацію небезпечних відходів за категоріями, наприклад, хімічні речовини або біологічні матеріали, і зобов'язує їх утилізувати на ліцензованих підприємствах, обладнаних для обробки таких відходів. Крім того, Закон України про охорону навколишнього природного середовища (№ 1264-XII) [62] визначає зобов'язання щодо мінімізації шкідливих викидів в атмосферу, в тому числі встановлюючи конкретні ліміти забруднювачів повітря. Лабораторії повинні встановлювати системи фільтрації та вентиляції, які відповідають цим обмеженням, щоб запобігти шкідливим викидам у повітря [26].

Що стосується забруднення води, то Водний кодекс України (№ 213/95-ВР) [46] встановлює вказівки щодо захисту водних об'єктів від забруднення внаслідок промислової діяльності, вимагаючи від лабораторій

очищення та знешкодження стічних вод перед скиданням. Це включає в себе використання спеціальних систем для фільтрації та очищення відпрацьованих рідин, щоб запобігти потраплянню забруднювачів у сусідні річки. Крім того, Закон про оцінку впливу на довкілля (№ 2059-VIII) [63] зобов'язує будь-який об'єкт, який може завдати шкоди довкіллю, проводити оцінку впливу на довкілля, яка включає визначення ризиків та пропонування заходів щодо пом'якшення забруднення води [26].

Щоб захистити біорізноманіття та забезпечити безпечне поводження з хімічними речовинами, Закон України про охорону навколишнього середовища (№ 1264-XII) [62] та інші відповідні нормативно-правові акти передбачають, що лабораторії повинні впроваджувати суворі протоколи безпеки для запобігання випадковому викиду небезпечних матеріалів. Вони включають належне зберігання, локалізацію та утилізацію небезпечних речовин. Лабораторії також зобов'язані підтримувати системи локалізації розливу та навчати персонал протоколам реагування на надзвичайні ситуації, щоб запобігти будь-якій шкоді навколишньому середовищу [26].

Підсумовуючи, дотримання цих законів і правил може ефективно зменшити ризики для навколишнього середовища та здоров'я, пов'язані з діяльністю лабораторії. Правильна утилізація відходів, системи фільтрації повітря, процеси очищення води та управління шумом мають вирішальне значення для мінімізації впливу на навколишнє середовище та природне середовище.

ВИСНОВКИ

1. Порівняння трьох видів штамів *Lactibacillus casei* дозволяє констатувати, що попри спільне еволюційне походження, вони суттєво відрізняються за функціональними властивостями, що визначає їхнє застосування у різних напрямках біотехнології. *L. casei* залишається традиційною ферментаційною культурою; *L. paracasei* є універсальним видом з високою технологічною стабільністю, придатним для широкого спектра промислових застосувань; *L. rhamnosus* – провідний пробіотичний мікроорганізм з високою медичною значущістю.

2. Зображене та проаналізоване філогенетичне дерево підтверджує наявність кількох чітко структурованих еволюційних кластерів у межах *L. casei*-комплексу та підтримує пропозицію виокремлення нових ізолятів у вид *L. chiayiensis* sp. nov. Результати аналізу узгоджуються з отриманими фенотиповими та хемотаксономічними даними, що комплексно підтверджує їхню таксономічну самостійність.

3. Сформована теплокарта підтверджує глибоку генетичну дивергенцію між видами *L. casei*-комплексу та вказує на високу необхідність використання геномних методів для точної ідентифікації штамів. Результати аналізу також демонструють, що традиційні фенотипові критерії не відображають фактичної геномної гетерогенності групи, а повногеномне порівняння є ключовим інструментом для сучасної таксономічної ревізії молочнокислих бактерій.

4. Проведені дослідження показують складну філогенетичну структуру комплексу *Lacticaseibacillus casei* і демонструють чітке розмежування між видами *L. casei*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus*, а також новим видом *L. chiayiensis* sp. nov., що підтверджує коректність їх сучасної таксономічної класифікації.

5. Оновлена класифікація дозволяє точніше відображати природну філогенетичну структуру комплексу *L. casei*. Це має практичне значення для коректної ідентифікації промислових штамів, оптимізації технологічних процесів ферментації та правильного маркування пробіотичних продуктів.

6. Встановлено, що штами групи *Lacticaseibacillus casei* демонструють як спільні родові ознаки, так і виражені міжвидові відмінності, що дозволяють чітко розмежувати *L. casei*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus* та *L. chiayiensis sp. nov.*. Усі види є гомоферментативними, каталаза- та оксидаза-негативними, що підтверджує їх належність до типових молочнокислих бактерій.

7. Загалом встановлені фізіолого-біохімічні характеристики дозволяють диференціювати види всередині групи *L. casei* та визначити їх потенційну функціональність у харчовій, пробіотичній та біотехнологічній промисловості.

8. Дані демонструють характерний для молочнокислих бактерій поступовий перехід від нейтрального до кислого середовища, що є результатом накопичення органічних кислот. Три штами – *L. casei*, *L. rhamnosus* та *L. chiayiensis sp. nov.* – проявили високу й майже однакову ферментативну активність, тоді як *L. paracasei* показав помірну кислототворну здатність, що може мати практичне значення при доборі штамів для конкретних технологічних процесів у харчовій промисловості або пробіотичних продуктах.

9. Встановлено чітку різницю у кислотопродукуванні серед досліджених штамів: *L. casei*, *L. rhamnosus* і *L. chiayiensis sp. nov.* демонструють високу і подібну досягнуту титровану кислотність, тоді як *L. paracasei* має суттєво нижчу кінцеву кислотність та повільнішу кінетику ферментації. Ці відмінності мають практичне значення при доборі штамів для конкретних ферментаційних технологій.

10. Економічний аналіз проведених досліджень показує, що найбільш економічно вигідним штамом для промислового застосування є *L.*

paracasei при застосування якого можна досягти найвищого рівня рентабельності – 22-28%, тоді як *L. rhamnosus* займає провідні позиції у нішевих напрямках виробництва продуктів преміум-класу, пов'язаних із виробництвом функціональних продуктів та пробіотиків – 25-35%.

ПРОПОЗИЦІЇ

1. Розширити класифікацію генетичної різноманітності *штамів L. casei*-комплексу з включенням нових ізолятів для уточнення таксономії та потенційного виділення додаткових нових видів.
2. Оцінити потенціал *L. rhamnosus* та *L. chiayiensis sp. nov.* як пробіотиків у продуктах для здоров'я, з акцентом на їхню життєздатність та функціональність у шлунково-кишковому тракті.
3. Розробити рекомендації щодо оптимального добору штамів для конкретних біотехнологічних та харчових застосувань із врахуванням їх економічної ефективності.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae* / J. Zheng та ін. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2020. Т. 70, № 4. С. 2782–2858. URL: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107> (дата звернення: 21.10.2025).
2. Adolfsson O., Meydani S. N., Russell R. M. Yogurt and gut function. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2004. Т. 80, № 2. С. 245–256. URL: <https://doi.org/10.1093/ajcn/80.2.245> (дата звернення: 09.10.2025).
3. Aragón-Rojas, S., Quintanilla-Carvajal, M. X., & Hernández-Sánchez, H. (2018). Multifunctional Role of the Whey Culture Medium in the Spray Drying Microencapsulation of Lactic Acid Bacteria. *Food technology and biotechnology*, 56(3), 381–397. <https://doi.org/10.17113/ftb.56.03.18.5285>
4. Bilan laitier 2024 - Lactalis. *Lactalis*. URL: <https://www.lactalis.com/bilan-laitier-2024/> (дата звернення: 12.11.2025).
5. Colijn C., Gardy J. Phylogenetic tree shapes resolve disease transmission patterns. *Evolution, Medicine, and Public Health*. 2014. Т. 2014, № 1. С. 96–108. URL: <https://doi.org/10.1093/emph/eou018> (дата звернення: 07.10.2025).
6. Deep whole-genome ctDNA chronology of treatment-resistant prostate cancer / C. Herberts та ін. *Nature*. 2022. URL: <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04975-9> (дата звернення: 07.10.2025).
7. Djouzi, Z., Andrieux, C., Degivry, M. C., Bouley, C., & Szytli, O. (1997). The association of yogurt starters with *Lactobacillus casei* DN 114.001 in fermented milk alters the composition and metabolism of intestinal microflora in germ-free rats and in human flora-associated rats. *The Journal of nutrition*, 127(11), 2260–2266. <https://doi.org/10.1093/jn/127.11.2260>
8. Environmental and Laboratory Safety | Responsible Conduct of Research. *Home | Responsible Conduct of Research*. URL: <https://rcr.gatech.edu/safety> (дата звернення: 21.10.2025).

9. Frontiers | Metabolism Characteristics of Lactic Acid Bacteria and the Expanding Applications in Food Industry / Y. Wang та ін. *Frontiers*. URL: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.612285> (дата звернення: 21.10.2025).

10. Frontiers | The *Lactobacillus casei* Group: History and Health Related Applications / D. Hill та ін. *Frontiers*. URL: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2018.02107/full> (дата звернення: 21.10.2025).

11. Guarner F. Probiotics. *International Journal of Food Microbiology*. 1998. Т. 39, № 3. С. 237–238. URL: [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(97\)00136-0](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(97)00136-0) (дата звернення: 09.10.2025).

12. Guidelines for a lab worker. *Faculty of Medical & Health Sciences | Tel Aviv University*. URL: https://en-med.tau.ac.il/general_safety_guidelines_lab_worker2020 (дата звернення: 21.10.2025).

13. Hill, D., Sugrue, I., Tobin, C., Hill, C., Stanton, C., & Ross, R. P. (2018). The *Lactobacillus casei* Group: History and Health Related Applications. *Frontiers in microbiology*, 9, 2107. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02107>

14. HIV forensics: pitfalls and acceptable standards in the use of phylogenetic analysis as evidence in criminal investigations of HIV transmission / E. Bernard та ін. *HIV Medicine*. 2007. Т. 8, № 6. С. 382–387. URL: <https://doi.org/10.1111/j.1468-1293.2007.00486.x> (дата звернення: 07.10.2025).

15. Ibrahim, S. A. (2016). Lactic acid bacteria: *Lactobacillus spp.*: other species.

16. Kullar, R., Goldstein, E. J. C., Johnson, S., & McFarland, L. V. (2023). *Lactobacillus* Bacteremia and Probiotics: A Review. *Microorganisms*, 11(4), 896. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11040896>

17. Lab Safety Guide | Environmental Health and Safety. *Home | Environmental Health and Safety*.

URL: <https://ehs.stonybrook.edu/programs/laboratory-safety/lab-safety-guide> (дата звернення: 21.10.2025).

18. Laboratory Responsibilities for Personal Protective Equipment | Environment, Health and Safety. *Home | Environment, Health and Safety*. URL: <https://ehs.cornell.edu/research-safety/chemical-safety/laboratory-safety-manual/chapter-3-personal-protective-0> (дата звернення: 21.10.2025).

19. Lactalis Groupe. (2024). Sustainable Development Report 2023–2024. Laval, France: Lactalis Corporate Publications. <https://www.lactalis.fr>

20. *LACTICASEIBACILLUS CASEI*: Overview, Uses, Side Effects, Precautions, Interactions, Dosing and Reviews. *WebMD - Better information. Better health*. URL: <https://www.webmd.com/vitamins/ai/ingredientmono-1670/lacticaseibacillus-casei.com#overview> (дата звернення: 21.10.2025).

21. Lai, H. H., Chiu, C. H., Kong, M. S., Chang, C. J., & Chen, C. C. (2019). Probiotic *Lactobacillus casei*: Effective for Managing Childhood Diarrhea by Altering Gut Microbiota and Attenuating Fecal Inflammatory Markers. *Nutrients*, 11(5), 1150. <https://doi.org/10.3390/nu11051150>

22. LAKTALIS-MIKOLAJIV, PJSC |Ukraine, м. Миколаїв, вул. Виноградна, 2 |23624594. LAKTALIS-MIKOLAJIV, PJSC |Ukraine, м. Миколаїв, вул. Виноградна, 2 |23624594. URL: <https://lactalis-mykolayiv.biz-gid.com> (дата звернення: 17.11.2025).

23. Li, S., Jiang, C., Chen, X., Wang, H., & Lin, J. (2014). *Lactobacillus casei* immobilized onto montmorillonite: Survivability in simulated gastrointestinal conditions, refrigeration and yogurt. *Food research international (Ottawa, Ont.)*, 64, 822–830. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.08.030>

24. Martinez, R. M., Hulten, K. G., Bui, U., & Clarridge, J. E., 3rd (2014). Molecular analysis and clinical significance of *Lactobacillus spp.* recovered from clinical specimens presumptively associated with disease. *Journal of clinical microbiology*, 52(1), 30–36. <https://doi.org/10.1128/JCM.02072-13>

25. McHugh, A.J., Yap, M., Crispie, F. *et al.* Microbiome-based environmental monitoring of a dairy processing facility highlights the challenges

associated with low microbial-load samples. *npj Sci Food* 5, 4 (2021).
<https://doi.org/10.1038/s41538-021-00087-2>

26. Monitoring of resource-efficient provision of Ukrainian dairy processing enterprises with high-quality raw milk on the basis of international requirements / N. Kushnir та ін. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2021. Т. 915, № 1. С. 012030. URL: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/915/1/012030> (дата звернення: 26.10.2025).

27. Phylogenetic Inference (Stanford Encyclopedia of Philosophy). *Stanford Encyclopedia of Philosophy*. URL: <https://plato.stanford.edu/entries/phylogenetic-inference/> (дата звернення: 07.10.2025).

28. Rapport de Durabilité 2024 - Lactalis. *Lactalis*. URL: https://www.lactalis.com/wp-content/uploads/2025/11/LAC2024_Lactalis_RSE_FR_MEL_COMPLET.pdf (дата звернення: 12.11.2025).

29. Rebbeca M. Duar, Xiaoxi B. Lin, Jinshui Zheng, Maria Elena Martino, Théodore Grenier, María Elisa Pérez-Muñoz, François Leulier, Michael Gänzle, Jens Walter, Lifestyles in transition: evolution and natural history of the genus *Lactobacillus*, *FEMS Microbiology Reviews*, Volume 41, Issue Supp_1, August 2017, Pages S27–S48, <https://doi.org/10.1093/femsre/fux030>

30. Rosenberg M. S., Kumar S. Incomplete taxon sampling is not a problem for phylogenetic inference. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2001. Т. 98, № 19. С. 10751–10756. URL: <https://doi.org/10.1073/pnas.191248498> (дата звернення: 07.10.2025).

31. Salvetti, E., Torriani, S., & Felis, G. E. (2012). The genus *Lactobacillus*: a taxonomic update. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 4(4), 217-226.

32. Shah, A. B., Baiseitova, A., Zahoor, M., Ahmad, I., Ikram, M., Bakhsh, A., Shah, M. A., Ali, I., Idress, M., Ullah, R., Nasr, F. A., & Al-Zharani, M. (2024). Probiotic significance of *Lactobacillus* strains: a comprehensive review on

health impacts, research gaps, and future prospects. *Gut microbes*, 16(1), 2431643.
<https://doi.org/10.1080/19490976.2024.2431643>

33. Slover C. M., Danziger L. *Lactobacillus: a Review. Clinical Microbiology Newsletter*. 2008. Т. 30, № 4. С. 23–27.
 URL: <https://doi.org/10.1016/j.clinmicnews.2008.01.006> (дата звернення: 09.10.2025).

34. TABLE OF CONTENTS | Environment, Health and Safety. *Home | Environment, Health and Safety*. URL: <https://ehs.cornell.edu/research-safety/chemical-safety/laboratory-safety-manual/table-contents> (дата звернення: 21.10.2025).

35. The immunomodulatory effects of lactic acid bacteria for improving immune functions and benefits - *Applied Microbiology and Biotechnology. SpringerLink*. URL: <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4407-3> (дата звернення: 21.10.2025).

36. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic - *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology. Nature*. URL: <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66> (дата звернення: 21.10.2025).

37. The *Lactobacillus casei* Group: History and Health Related Applications / D. Hill та ін. *Frontiers in Microbiology*. 2018. Т. 9. URL: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02107> (дата звернення: 09.10.2025).

38. The Role of Probiotics in Gut Health - *Ascensus Health. Ascensus Health*. URL: <https://ascensushealth.com.sg/blog/the-role-of-probiotics-in-gut-health/#:~:text=Aiding%20Digestion%20and%20Nutrient%20Absorption,effectively%20absorbed%20into%20the%20bloodstream>. (дата звернення: 09.10.2025).

39. Vincristine and Vinblastine Anticancer Catharanthus Alkaloids: Pharmacological Applications and Strategies for Yield Improvement / М.М. Alam, М. Naeem, М.М.А. Khan, М. Uddin // *Catharanthus roseus* / за ред. М. Naeem, Т. Aftab, М. Khan. Springer, Cham, 2017.
 URL: https://doi.org/10.1007/978-3-319-51620-2_11 (дата звернення: 07.10.2025).

40. W. J. Lee, J. A. Lucey Physical Properties of Yogurt. *Home Page*. URL: <https://doi.org/10.5713/ajas.2010.r.05> (дата звернення: 09.10.2025).
41. Watrous L. E., Wiley E. O. Phylogenetics: The Theory and Practice of Phylogenetic Systematics. *Systematic Zoology*. 1982. Т. 31, № 1. С. 98. URL: <https://doi.org/10.2307/2413419> (дата звернення: 07.10.2025).
42. WorkSafeNB | Laboratory safety. *WorkSafeNB | WorkSafeNB*. URL: <https://www.worksafenb.ca/safety-topics/laboratory-safety/> (дата звернення: 21.10.2025).
43. Zacharski, K. A., Southern, M., Ryan, A., & Adley, C. C. (2018). Evaluation of an Environmental Monitoring Program for the Microbial Safety of Air and Surfaces in a Dairy Plant Environment. *Journal of food protection*, 81(7), 1108–1116. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-464>
44. Борисенко О. С., Романенко О. В. Сучасні тенденції розвитку ринку молочної продукції. Інфраструктура ринку. Випуск 42, 2020. С. 64–68
45. Величко А. Є. Кухарук Р. М., Маслова І. В., Пухякова М. В. Стан та перспективи розвитку ринку молока та молочних продуктів України. *Агросвіт*. 2021. № 16. С. 62–68.
46. Водний кодекс України : Кодекс України від 06.06.1995 № 213/95-ВР : станом на 15 листоп. 2024 р. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/213/95-вр#Text> (дата звернення: 21.10.2025).
47. Державні санітарні правила та норми, гігієнічні нормативи Правила влаштування і безпеки роботи в лабораторіях (відділах, відділеннях) мікробіологічного профілю ДСП 9.9.5.-080-02. *Офіційний вебпортал парламенту України*. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0001588-02#Text> (дата звернення: 23.11.2025).
48. ДСП 9.9.5.-080-02. *Державні санітарні правила та норми, гігієнічні нормативи. Правила влаштування і безпеки роботи в лабораторіях (відділах, відділеннях) мікробіологічного профілю*. БУДСТАНДАРТ Online. URL: https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=98937

49. ДСТУ 26781-95 Молоко. Метод вимірювання рН.
50. ДСТУ 34372–2017 Закваски бактеріальні для виробництва молочної продукції.
51. ДСТУ 3622-98 Молоко та молочні продукти. Відбирання проб і готування їх до випробовування.
52. ДСТУ IDF 122B:2003 Молоко і молочні продукти. Підготовка зразків і розведень для мікробіологічних досліджень.
53. ДСТУ IDF 73A:2003 Молоко і молочні продукти. Підрахунок кількості коліформ. Метод підрахунку колоній і метод визначення найімовірнішого числа за температури 30 °С.
54. ДСТУ ISO 707:2002 Молоко та молочні продукти. Настанови з відбирання проб.
55. ДСТУ ISO 7218:2014 Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Загальні настанови щодо мікробіологічних досліджень (ISO 7218:2007, ISO 7218:2007/Amd 1:2013, IDT). *БУДСТАНДАРТ Online - нормативні документи будівельної галузі України*. URL: https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=82219 (дата звернення: 23.11.2025).
56. Екологічний паспорт Миколаївської області – Управління екології та природних ресурсів. Миколаївська область, Україна. *Головна – Управління екології та природних ресурсів. Миколаївська область, Україна*. URL: <https://ecolog.mk.gov.ua/ua/ecoreports/ecopassport/> (дата звернення: 26.11.2025).
57. Коваленко Г. А. Методичні вказівки по економічному обґрунтуванню дипломних робіт студентів за спеціальністю 204-«ТВППТ». Миколаїв : МДАУ. 2020. 32 с.
58. Костенко В. І. Технологія виробництва молока і яловичини. К.: Видавництво Ліра-К, 2018. 672 с.

59. Миколаїв|TRAVELSESH. *TRAVELSESH*.
URL: https://travelua.com.ua/ukraine/mikolayivshhina/mikolayiv.html#google_vignette (дата звернення: 26.10.2025).
60. Молочний ринок України (інфографіка). *MilkUA.info*.
URL: <https://milkua.info/uk/post/molocnij-rinok-ukraini-infografika.com> (дата звернення: 10.10.2025).
61. Про затвердження державних санітарних норм і правил "Організація роботи лабораторій при дослідженні матеріалу, що містить біологічні патогенні агенти I-IV груп патогенності молекулярно-генетичними методами", Наказ Міністерства охорони здоров'я України № 26 (2008) (Україна). <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0088-08#Text>
62. Про охорону навколишнього природного середовища: Закон України від 25.06.1991 № 1264-XII : станом на 15 листоп. 2024 р.
URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/1264-12#Text> (дата звернення: 21.10.2025).
63. Про оцінку впливу на довкілля : Закон України від 23.05.2017 № 2059-VIII : станом на 15 листоп. 2024 р.
URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2059-19#Text> (дата звернення: 06.12.2024).
64. Про управління відходами: Закон України від 20.06.2022 № 2320-IX: станом на 15 листоп. 2024 р. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2320-20#Text> (дата звернення: 21.10.2025).
65. Регіональна доповідь – Управління екології та природних ресурсів. Миколаївська область, Україна. *Головна – Управління екології та природних ресурсів. Миколаївська область, Україна*.
URL: <https://ecolog.mk.gov.ua/ua/ecoreports/regonalreport/> (дата звернення: 26.11.2025).
66. Старовойтова, С. О., Тимошок, Н. О., Горчаков, В. Ю., & Співак, М. Я. (2009). Імуномодуючі властивості бактерій роду *Lactobacillus*. *Мікробіологічний журнал*, (71, № 3), 41-47.

67. Сусол Р. Л. Профілактика метаболічних розладів у молочному скотарстві. *Тваринництво та ветеринарія*. 10/2018. С. 48-50.

68. Якість та харчова безпека. *Молочна продукція Лакталіс в Україні*. URL: <https://lactalis.com.ua/jakist-ta-harchova-bezpeka/> (дата звернення: 12.10.2025).

ДОДАТОК А



December 5, 2025 • Montreal, Canada

SECTION 16.
BIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY

Chloé Riou
master of higher education for the 1st year of the master's degree of the faculty of STYPTSB
Molitor-Spécial Agence Chimie, Châtea

Scientific supervisor: Karolina Chou
Ph.D. doctor degree of the Department of Biochemistry and Biotechnology
Molitor-Spécial Agence Chimie, Châtea

FERMENTATION PROPERTIES OF DIFFERENT STRAINS OF LACTOBACILLUS CASEI

Lactobacillus casei strains are facultatively anaerobic. These positive bacteria with high metabolic activity in a wide range of carbohydrates. These fermentation properties are closely related to strain differences, the source of substrates (dairy products, plant materials, vegetables) and cultivation conditions [1]. The main fermentation products are lactic acid, acetic acid, ethanol, diacetyl. Most strains are homofermentative, but some [2, 3] are heterofermentative, producing CO₂ and H₂.

The study of strains was carried out in the Laboratory of Diagnostics, Cell Culture Cultivation and Biotechnology of the Molitor-Spécial Agence Chimie.

The pH was measured using an electronic method, which is based on measuring the potential of a hydrogen ion selective electrode (pH electrode). The pH electrode is immersed in the culture medium and is potential is measured using a pH meter [4]. The decrease in medium acidity, which is an indicator of the completion of the reaction. The medium was gradually stirred with a mechanical stirrer (110/1500 rpm) until a stable pH value appeared, indicating that the end point of the reaction had been reached. The lowest acidity was calculated by the volume of the spent alkali solution and expressed in degrees Turner (°T), which allowed us to quantitatively assess the level of lactic acid in the samples [5, 6].

The fermentation process of a milk medium prepared from sterilized milk powder was investigated. All *L. casei* strains successfully reduced acid production during fermentation. The pH of all milk samples decreased before 4 h, the number of microorganisms exceeded 1.1 log CFU/g L, and the acidity of all strains exceeded 10°T.

This study analyzed the dynamics of pH decrease during fermentation for five *Lactobacillus casei* strains (L. casei, L. casei, L. casei and L. casei) in milk medium at 4, 8, 16, 24, 48 and 96 hours, which is reflected in Table 1.

Table 1
Dynamics of pH decrease during fermentation of *Lactobacillus casei* strains over time intervals of 0-96 hours

Strain	Time	pH	pH	pH	pH	pH	pH
L. casei	0	6.5	6.4	6.3	6.2	6.1	6.0
L. casei	0	6.5	6.4	6.3	6.2	6.1	6.0
L. casei	0	6.5	6.4	6.3	6.2	6.1	6.0
L. casei	0	6.5	6.4	6.3	6.2	6.1	6.0
L. casei	0	6.5	6.4	6.3	6.2	6.1	6.0

* author's development

The table displays the detailed dynamics of acidity (pH) changes during the fermentation process of five strains of the *Lactobacillus casei* group for 96 hours. All strains showed a decrease in the acid medium pH of 0.5, which allows for a correct comparison of their metabolic rate and ability to reduce acidity. In the first 24 hours of fermentation, the most intense acidification of the medium was observed in strains L. casei (pH 6.5), L. casei (pH 6.4) and L. casei (pH 6.3).

This indicates a rapid adaptation of cells to the nutrient medium and an active rate of lactic acid fermentation. In contrast, the L. casei strain demonstrated a significantly slower initial pH decrease (0.1), which may be due to the predominance of its growth in the initial substrate zone.

Until the 48th hour, all strains continued to actively produce lactic acid, while L. casei, L. casei and L. casei began to show a slight increase in pH (6.4-6.5). L. casei in this stage demonstrated a higher pH level (6.5), which indicates a slower rate of acid production during fermentation.

At the 96th hour, a phase of maximum metabolic activity of bacteria was observed. These strains - L. casei, L. casei and L. casei - showed a decrease in pH (6.0-6.1), indicating the level of high acidification of the medium. L. casei at this stage also significantly reduced the pH to 6.0, but remained the least active during the entire study.

By the end of the fermentation cycle at the 96th hour, all strains showed

December 5, 2025 • Montreal, Canada

Section 16. BIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY

Chloé Riou
master of higher education for the 1st year of the master's degree of the faculty of STYPTSB
Molitor-Spécial Agence Chimie, Châtea

Scientific supervisor: Karolina Chou
Ph.D. doctor degree of the Department of Biochemistry and Biotechnology
Molitor-Spécial Agence Chimie, Châtea

FERMENTATION PROPERTIES OF DIFFERENT STRAINS OF LACTOBACILLUS CASEI

Lactobacillus casei strains are facultatively anaerobic. These positive bacteria with high metabolic activity in a wide range of carbohydrates. These fermentation properties are closely related to strain differences, the source of substrates (dairy products, plant materials, vegetables) and cultivation conditions [1]. The main fermentation products are lactic acid, acetic acid, ethanol, diacetyl. Most strains are homofermentative, but some [2, 3] are heterofermentative, producing CO₂ and H₂.

The study of strains was carried out in the Laboratory of Diagnostics, Cell Culture Cultivation and Biotechnology of the Molitor-Spécial Agence Chimie.

The pH was measured using an electronic method, which is based on measuring the potential of a hydrogen ion selective electrode (pH electrode). The pH electrode is immersed in the culture medium and is potential is measured using a pH meter [4]. The decrease in medium acidity, which is an indicator of the completion of the reaction. The medium was gradually stirred with a mechanical stirrer (110/1500 rpm) until a stable pH value appeared, indicating that the end point of the reaction had been reached. The lowest acidity was calculated by the volume of the spent alkali solution and expressed in degrees Turner (°T), which allowed us to quantitatively assess the level of lactic acid in the samples [5, 6].

The fermentation process of a milk medium prepared from sterilized milk powder was investigated. All *L. casei* strains successfully reduced acid production during fermentation. The pH of all milk samples decreased before 4 h, the number of microorganisms exceeded 1.1 log CFU/g L, and the acidity of all strains exceeded 10°T.

This study analyzed the dynamics of pH decrease during fermentation for five *Lactobacillus casei* strains (L. casei, L. casei, L. casei and L. casei) in milk medium at 4, 8, 16, 24, 48 and 96 hours, which is reflected in Table 1.

Table 1
Dynamics of pH decrease during fermentation of *Lactobacillus casei* strains over time intervals of 0-96 hours

Strain	Time	pH	pH	pH	pH	pH	pH
L. casei	0	6.5	6.4	6.3	6.2	6.1	6.0
L. casei	0	6.5	6.4	6.3	6.2	6.1	6.0
L. casei	0	6.5	6.4	6.3	6.2	6.1	6.0
L. casei	0	6.5	6.4	6.3	6.2	6.1	6.0
L. casei	0	6.5	6.4	6.3	6.2	6.1	6.0

* author's development

The table displays the detailed dynamics of acidity (pH) changes during the fermentation process of five strains of the *Lactobacillus casei* group for 96 hours. All strains showed a decrease in the acid medium pH of 0.5, which allows for a correct comparison of their metabolic rate and ability to reduce acidity. In the first 24 hours of fermentation, the most intense acidification of the medium was observed in strains L. casei (pH 6.5), L. casei (pH 6.4) and L. casei (pH 6.3).

This indicates a rapid adaptation of cells to the nutrient medium and an active rate of lactic acid fermentation. In contrast, the L. casei strain demonstrated a significantly slower initial pH decrease (0.1), which may be due to the predominance of its growth in the initial substrate zone.

Until the 48th hour, all strains continued to actively produce lactic acid, while L. casei, L. casei and L. casei began to show a slight increase in pH (6.4-6.5). L. casei in this stage demonstrated a higher pH level (6.5), which indicates a slower rate of acid production during fermentation.

At the 96th hour, a phase of maximum metabolic activity of bacteria was observed. These strains - L. casei, L. casei and L. casei - showed a decrease in pH (6.0-6.1), indicating the level of high acidification of the medium. L. casei at this stage also significantly reduced the pH to 6.0, but remained the least active during the entire study.

By the end of the fermentation cycle at the 96th hour, all strains showed

CERTIFICATE OF PARTICIPATION

Raisa Chaika

participated in the VII International Scientific and Theoretical Conference
«Scientific Method: Reality and Future Trends of Researching»

December 5, 2025 • Montreal, Canada

Academic Workload: 24 hours of participation / 0.8 ECTS credits

Confirmed Outcome: scientific paper published

1036774/scientia-0512-2025 | 979-0-89660-286-9

MIRIAM GOLDENBLAT
President and responsible organizer
International Center of Scientific Research
United Register of Public Institutions Number 10101

ICSR
INTERNATIONAL CENTER OF SCIENTIFIC RESEARCH

Bowker

QR code