

Міністерство освіти і науки України  
Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя  
(повне найменування вищого навчального закладу)

**Інженерії машин, споруд і технологій**  
(назва факультету)

**Харчової біотехнології і хімії**  
(повна назва кафедри)

# ПОЯСНЮВАЛЬНА ЗАПИСКА

до дипломного проекту (роботи)

**Магістр**

(освітній ступінь (освітньо-кваліфікаційний рівень))

на тему:

**Експрес метод аналізу білків сироватки молока**

Виконав: студент 6 курсу, групи МІм 61  
спеціальності (напряму підготовки) \_\_\_\_\_

**181 “Харчові технології”**

(шифр і назва спеціальності (напряму підготовки))

\_\_\_\_\_  
(підпис) Лучканін Н.В.  
(прізвище та ініціали)

Керівник \_\_\_\_\_  
(підпис) Юкало В.Г.  
(прізвище та ініціали)

Нормоконтроль \_\_\_\_\_  
(підпис) Покотило О.С.  
(прізвище та ініціали)

Рецензент \_\_\_\_\_  
(підпис) (прізвище та ініціали)

Міністерство освіти і науки України  
Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя  
(повне найменування вищого навчального закладу)

Факультет Інженерії машин, споруд і технологій  
Кафедра Харчової біотехнології і хімії  
Освітньо-кваліфікаційний рівень Магістр  
Напрямок підготовки Харчові технології  
(шифр і назва)  
Спеціальність 181 "Харчові технології"  
(шифр і назва)

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

Завідувач кафедри

проф. Покотило О.С

«\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2019\_р.

## **ЗАВДАННЯ**

**НА ДИПЛОМНИЙ ПРОЕКТ (РОБОТУ) СТУДЕНТУ**

Лучканін Наталія Василівна

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема проекту (роботи) Експрес метод аналізу білків сироватки  
молока

Керівник проекту (роботи) Юкало Володимир Глібович, професор

(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

Затверджені наказом по університету від **4/7 – 771 від 30.08.2019**

2. Термін подання студентом проекту (роботи) грудень 2019 року

3. Вихідні дані до проекту (роботи) Спеціальна, періодична література та нормативна  
документація з питань досліджень. Методики та методи досліджень стандартні та  
уніфіковані

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити)

Провести літературний та патентний пошук щодо видів молочної сироватки.

Дослідити білки сироватки молока.

Провести літературний та патентний пошук щодо продуктів з білком сироватки  
молока.

Дослідити методи аналізу білків сироватки молока.

таблиці, графіки, схеми, діаграми

## 6. Консультанти розділів проекту (роботи)

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Охорона праці			
Безпека в надзвичайних ситуаціях			
Екологія			
Нормоконтроль			

7. Дата видачі завдання

**КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН**

№ з/п	Назва етапів дипломного проекту (роботи)	Термін виконання етапів проекту (роботи)	Примітка
1.	Аналітичний огляд та патентний пошук інформації відповідно до теми магістерської роботи	14.05. 19 р. – 31.05.19 р.	
2.	Складання схеми досліджень	03.06.19 р. – 10.06.19 р.	
3.	Опрацювання методики досліджень	11.06.19 р. – 27.06.19 р.	
4.	Виконання експериментальних досліджень (Частина I)	03.09.19 р. – 28.09.19 р.	
5.	Завершення експериментальних досліджень (Частина II)	01.10.19 р. – 15.10.19 р.	
6.	Збір інформації до виконання розділу «Екологія» та «Безпека в надзвичайних ситуаціях»	16.10.19 р. – 04.11.19 р.	
7.	Закінчення написання розділів	05.11.19 р – 30.11.19 р.	
8.	Подання магістерської роботи до захисту	07.12.19 р	

Студент

\_\_\_\_\_ (підпис)

**Лучканін Н.В.**

\_\_\_\_\_ (прізвище та ініціали)

Керівник проекту (роботи)

\_\_\_\_\_ (підпис)

**Юкало В.Г.**

\_\_\_\_\_ (прізвище та ініціали)

## АНОТАЦІЯ

**Лучканін Н. В.** Експрес-метод аналізу білків сироватки молока. 181 «Харчові технології» – Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя. – Тернопіль, 2019.

Дослідження на здобуття кваліфікації магістра з спеціальності 181 “Харчові технології”. – Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя, Тернопіль, 2019.

Магістерська кваліфікаційна робота присвячена електрофорезу протеїнів сироватки молока.

Запропонований спрощений варіант електрофорезу в однорідному гелі для експрес аналізу білків сироватки молока.

*Ключові слова: протеїни сироватки молока, фракційний склад, електрофорез.*

## ANNOTATION

Luchkanin N.V. Express-method of lactoserum proteins analysis. 181 "Food Technologies" - Ternopil National Technical University named after Ivan Puliuy. - Ternopil, 2019.

Research on qualification of master's degree in specialty 181 "Food technologies". - Ternopil Ivan Pulyuy National Technical University, Ternopil, 2019.

Master's qualification work is devoted to electrophoresis of milk whey proteins.

A simplified version of homogeneous gel electrophoresis is proposed express serum protein analysis of milk.

*Keywords: whey proteins, fractional composition, electrophoresis.*

					Зміст	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		3

## ЗМІСТ

Вступ	6
Мета і завдання роботи	8
1. Огляд літератури	9
1.1. Білки сироватки молока.	9
1.2. $\beta$ -Лактоглобулін.	11
1.3. $\alpha$ -Лактальбумін.	13
1.4. Імуноглобуліни.	14
1.5. Альбумін сироватки крові.	15
1.6. Мінорні білки.	15
1.7. Лактоферин.	15
1.8. Використання сироваткових білків в дитячому харчуванні.	16
1.9. Сироваткові білки в ентеральному харчуванні.	18
1.10. Використання сироваткових білків в лікувально-дієтичних продуктах.	19
1.11. Альбумін-казеїновий концентрат.	20
2. Матеріали і методи досліджен.	22
2.1. Гель-фільтрація білків сироватки молока.	22
2.2. Електрофорез сироватки молока.	24
3. Результати власних досліджень та їх обговорення.	27

3.1.	Електрофорез протеїнів сироватки молока.	27
3.2.	Обговорення результатів експрес-аналізу фракційного складу протеїнів сироватки.	38
	Висновки і пропозиції виробництву.	41
4.	Обґрунтування економічної ефективності.	42
5.	Охорона праці та безпека в надзвичайних ситуаціях.	44
5.1.	Організація охорони праці на підприємствах.	44
5.2.	Актуальність проблеми електробезпеки.	50
5.3.	Організація цивільного захисту хімічно небезпечного об'єкта.	51
6.	Екологія.	54
6.1.	Екологічні вимоги до харчових продуктів.	54
6.2.	Методи аналізу забруднення харчових продуктів	55
	Бібліографічний опис	58
	Додатки	65

## Вступ

Вміст сироваткових білків у сироватці досягає 0,5...1,5 %. Фракції білків сироватки молока суттєво відрізняються між собою за молекулярними масами та зарядами молекул при нейтральних і слаболужних значеннях рН середовища. Розробка ефективного експрес-методу для аналізу та ідентифікації протеїнових фракцій сироватки молока є актуальним завданням. Такий метод також може мати значення при встановленні автентичності складу білкових продуктів, які містять сироватку молока. За присутності ДСН електрофоретична система дає хороші результати розділення білків сироватки молока. Сироваткові білки є одним з найбільш цінних компонентів молока. Білки сироватки молока застосовують в ентеральному харчуванні та лікувально-профілактичній дієті.

Основними недоліками аналітичних диск-електрофоретичних систем є необхідність підготовки великої кількості реактивів і формування двох видів ПАГ. Це ускладнює аналіз і робить його довготривалим. Загалом системи диск-електрофорезу не відповідають вимогам до експрес-аналізу, проте електрофоретичні методи не потребують дорогого обладнання, є доступними і можуть бути адаптовані для серійних і порівняльних аналізів протеїнів сироватки молока.

Метою досліджень є створення електрофоретичної системи для експрес-аналізу фракційного складу білків сироватки молока.

Для досягнення мети потрібно виконати наступні завдання:

1. Підібрати варіант електрофоретичної системи для створення експрес-методики.
2. Розробити електрофоретичну систему для експрес аналізу білків сироватки молока.
3. Оцінити відтвореність запропонованого методу.

					Вступ	Арк.
						6
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		

Об'єктами дослідження є фракційний склад білків сироватки молока, електрофоретична система.

Методи дослідження наступні: електрофорез сироватки молока, гель-фільтрація білків сироватки молока.

Запропонований спрощений варіант електрофорезу в однорідному гелі для експрес-аналізу білків сироватки молока.

					Вступ	Арк.
						7
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		



## МЕТА І ЗАВДАННЯ РОБОТИ

**Мета досліджень.** створення електрофоретичної системи для експрес аналізу фракційного складу білків сироватки молока.

*Для досягнення мети потрібно виконати наступні завдання:*

1. Підібрати варіант електрофоретичної системи для створення експрес-методики.
2. Розробити електрофоретичну систему для експрес аналізу білків сироватки молока.
3. Оцінити відтворюваність запропонованого методу.

					Мета і завдання роботи	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		8

# РОЗДІЛ 1

## ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1. Експрес-метод аналізу білків сироватки молока

#### 1.1. Білки сироватки молока

Білки – це складні азотисті високомолекулярні полімери, що складаються з амінокислот, вони складають приблизно 20 % маси людського організму і більше 50 % сухої маси клітини [1].

Вміст сироваткових білків у сироватці досягає 0,5...1,5 %. Сироваткові білки є одним з найбільш цінних компонентів. Сироваткові білки представляють собою групу різних глобулярних білків, які відрізняються структурою і властивостями. Виділяють два головних види сироваткових білків:  $\beta$ -лактоглобулін, який складає 52 % сироваткових білків;  $\alpha$ -лактальбумін, який складає 23 % сироваткових білків.  $\beta$ -лактоглобулін та  $\alpha$ -лактальбумін складають альбумін сироватки крові та імуноглобуліни. Крім них в сироватці містяться лактоферин, ферменти і інші мінорні білки.

$\beta$ -Лактоглобулін,  $\alpha$ -лактоальбумін та імуноглобуліни виконують важливі біологічні функції і мають велике промислове значення внаслідок високого вмісту незамінних і сірковмісних амінокислот [2]. З сироватки їх виділяють в нативному стані за допомогою ультрафільтрації і застосовують для збагачення різних харчових продуктів [2]. В незначних кількостях в молоці міститься альбумін сироватки крові і не має практичного значення доки, але лактоферин виконує важливі біологічні функції і потрібний для організму новонародженого, не

					<i>18-149 ДР</i>			
<i>Зм.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дат</i>				
<i>Розроб.</i>	Луцканін Н.В.				<i>Огляд літератури</i>	<i>Лит.</i>	<i>Лист</i>	<i>Листів</i>
<i>Перевірів</i>	Юкало В.Г.						9	
<i>Консул.</i>								
<i>Зав каф.</i>	Покотило.О.С.							
						<i>ТНТУ, ФМТ гр МЛм-61</i>		

дивлячись на невеликий вміст білку в молоці.

Окрім перерахованих білків сироватка містить глікомакропептиди (що раніше називалися компонентами протеозо-пептонної фракції, що є фрагментами  $\beta$ -казеїна) і інші білки, що мають ферментативні і гормональні властивості [2]. Важливу роль виконують білки молока, що входять до складу оболонок жирових кульок.

Амінокислотний склад сироваткових білків відрізняється від складу казеїну тільки складом та співвідношенням цих амінокислот. Сироваткові білки містять усі незамінні амінокислоти, при чому вміст деяких дефіцитних (лізину, триптофану) вищий, ніж у казеїну, тому у біологічному відношенні їх вважають більш повноцінними [2].

В таб. 1.1 наведені дані щодо амінокислотного складу сироваткових білків.

*Таблиця 1.1.*

#### **Амінокислотний склад основних представників сироваткових білків**

Амінокислота (скорочене позначення)	а-Лактальбумін		β-Лактоглобулін	
	число	% вмісту	число	% вмісту
Аспарагінова (Асп)	9	7,32	10	6,17
Аспарагін (Асн)	12	9,76	5	3,09
Глутамінова (Глу)	8	6,50	16	9,88
Глутамін (Глн)	5	4,06	9	5,56
Гліцин (Глі)	6	4,88	4	2,47
Аланін (Ала)	3	2,44	15	9,26
Валін (Вал)	6	4,88	9	5,55
Лейцин (Лей)	13	10,57	22	13,58
Ізолейцин (Іле)	8	6,50	10	6,17
Серин (Сер)	7	5,69	7	4,32
Треонін (Тре)	7	5,69	8	4,94
Цистеїн (Цис)	8	6,50	5	3,09
Метіонін (Мет)	1	0,81	4	2,47
Лізин (Ліз)	12	9,76	15	9,26
Гістидин (Гіс)	3	2,45	2	1,23

					Арк.
Огляд літератури					10
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат	

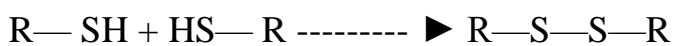
Склад представників сироваткових білків характеризується високим вмістом таких речовин: цистеїну, моноамінодикарбонових амінокислот і їх амідів. Проте порівняно з казеїновими фракціями вміст проліну і серину у амінокислотному складі сироваткових білків нижчий.

## 1.2. $\beta$ -Лактоглобулін.

$\beta$ -Лактоглобулін складає 50-54% білків сироватки (чи 7-12% усіх білків молока) [1].

$\beta$ -Лактоглобулін у сирому молоці знаходиться у вигляді димеру, що являє собою два поліпептидних ланцюга, молекулярна маса яких становить приблизно 18 кДа кожен. Ізоелектрична точка  $\beta$ -Лактоглобуліну становить рН 5,1. При нагріванні молока до температури 30 ° С  $\beta$ -лактоглобулін розпадається на мономери, які при подальшому нагріванні агрегують за рахунок утворення S—S-зв'язків [1].

+ 0



- Н 20

Теплова денатурація  $\beta$ -лактоглобуліну призводить до коагуляції агрегованого білка (він коагулює майже повністю при 85-100 ° С) [1]. Під час пастеризації молока денатурований  $\beta$ -Лактоглобулін разом з  $Ca_3(PO_4)_2$  випадає в осад. Утворюється молочний камінь, а згодом комплекс з к-казеїном, осідаючи разом з казеїновими міцелами при коагуляції. В складі сироваткових білків присутні такі мікроелементи: залізо, мідь, цинк, марганець, алюміній, селен, йод та інші [1].

При цьому утворений в результаті теплової обробки молока комплекс  $\beta$ -лактоглобулін - к-казеїн значно знижує атаку к-казеїну сичуговим ферментом і впливає на термостійкість казеїнових міцел. У зв'язку з підвищеною гідратованістю  $\beta$ -Лг (і  $\alpha$ -Лг) не згортається сичуговим ферментом.

					Огляд літератури	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		11

Припускають, що він бере участь в транспорті ряду речовин, наприклад вітаміну А, а також є інгібітором плазміну [1].

Н <sub>2</sub> N- Лей <sup>-10</sup>	Лей-	Іле-	Вал-	Тре-	Глн-	Глн-	Мет-	Ліз-	Глі-
Тир <sup>-20</sup>	Асп-	Іле-	Глн-	Ліз-	Вал-	Ала-	Глі-	Тре-	Три-
Сер <sup>-30</sup>	Сер-	Лей-	Ала-	Мет-	Ала-	Ала-	Сер-	Асп-	Іле-
Арг <sup>-40</sup>	Лей-	Лей-	Асп-	Ала-	Глн-	Сер-	Ала-	Про-	Лей-
Про <sup>-50</sup>	Вал-	Тир-	Вал-	Глу-	Глу-	Лей-	Ліз-	Про-	Тре-
Ліз <sup>-60</sup>	Глу-	Глі-	Асп-	Лей-	Глу-	Іле-	Лей-	Лей-	Глі-
Ліз <sup>-70</sup>	Три-	Глу-	Асн-	Глі-	Глу-	Цис-	Ала-	Глі-	Ліз-
Ала <sup>-80</sup>	Іле-	Іле-	Ала-	Глу-	Ліз-	Тре-	Ліз-	Іле-	Про-
Асн <sup>-90</sup>	Вал-	Фен-	Ліз-	Іле-	Асп-	Ала-	Лей-	Асн-	Глу-
Ліз <sup>-100</sup>	Ліз-	Вал-	Лей-	Вал-	Лей-	Асп-	Тре-	Асп-	Тир-
Сер <sup>-110</sup>	Ліз-	Тир-	Лей-	Лей-	Фен-	Цис-	Мет-	Глу-	Асн-
Глн <sup>-120</sup>	Ала-	Глу-	Про-	Глу-	Глн-	Сер-	Лей-	Ала-	Цис-
Асп <sup>-130</sup>	Цис-	Лей-	Вал-	Арг-	Тре-	Про-	Глу-	Вал-	Асп-
Лей <sup>-140</sup>	Глу-	Ала-	Лей-	Глу-	Ліз-	Фен-	Асп-	Ліз-	Ала-

					Огляд літератури				Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат					12

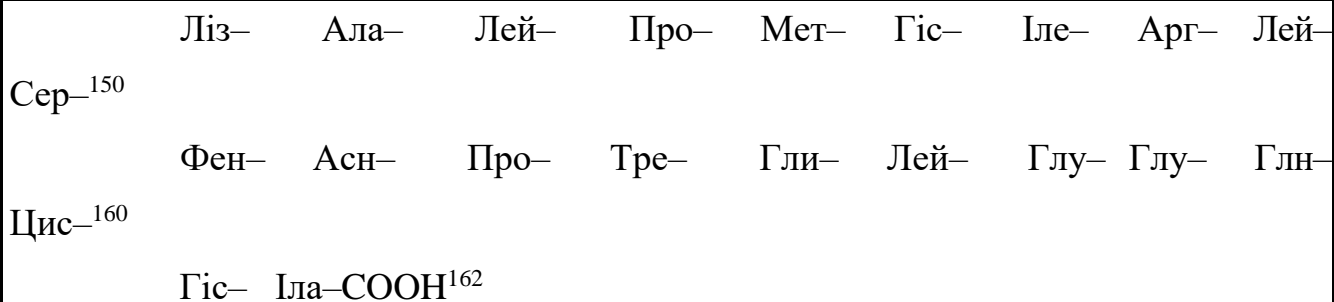


Рис. 1 Первинна структура β-лактоглобуліну (варіант В)

Є 7 генетичних варіантів β-лактоглобуліна: А, В, С, D, Е, F,G. Найбільш поширеним є варіант В. Варіант В відрізняється від варіанту В заміною залишку гліцину у положенні 64 на аспарагінову кислоту і в положенні 118 – аланіну на валін. У варіанта С в положенні 59 стоїть гістидин замість гліцину [1]. Варіант D має в положенні 45 гліцин замість глутамінової кислоти, а у варіанта Е положенні 158 глутамінова кислота замінена на гліцин. Первинні структури генетичних варіантів F та G не уточнені [1].

Поліпептидний ланцюг β-лактоглобуліну має значну кількість спаралізованих ділянок . У відсотковому значенні дані ділянки поділяють: α-спіраль – 15%, паралельна β-структури – 50%, антипаралельна β-структури – 18%. Пристуня деяка кількість неупорядкованої структури - 17 %.

### 1.3. α-Лактальбумін

Вміст в сироваткових білках α-лактальбуміна становить 20-25%, що складає 2-5% загальної кількості білків. α-Лактальбумін має молекулярну масу близько 14 кДа, його молекула являє собою один поліпептидний ланцюг, що складається з 123 амінокислотних залишків і містить чотири дисульфідні зв'язки (—S—S—).

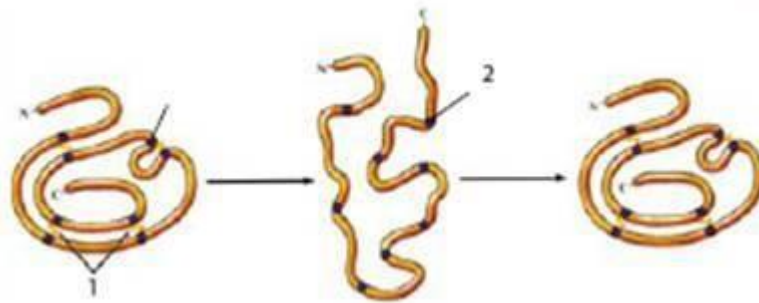
Для порівняння: молекула β-лактоглобуліну містить дві дисульфідні зв'язки і одну вільну сульфгідрильну групи (SH-групу), яка призводить до збільшення швидкості агрегації після денатурації [1].

За останніми даними, α-Л є метало протеїном. Це означає його здатність

					Огляд літератури	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		13

зв'язувати іони кальцію, які відіграють важливу роль в стабілізації його третинної структури.  $\alpha$ -Лактальбумин стійкий до нагрівання, він є найбільш термостабільною частиною сироваткових білків, що відрізняє його від  $\beta$ -лактоглобуліну і особливо імуноглобулінів термолабільністю.

Велика стійкість  $\alpha$ -лактальбуміна до нагрівання обумовлюється оборотністю денатурації білка - після охолодження спостерігається відновлення його нативної структури за рахунок мимовільного повторного згортання ланцюгів, що показано на рисунку 1. Цей процес називається ренатурацією. Для ренатурації  $\alpha$  Л а необхідні іони кальцію, які стабілізують його просторову



структуру.

Рис. 1. Відновлення нативної структури білка

Відкриттям останніх років є розшифровка біологічної ролі  $\alpha$ -Лактальбуміна. З'ясовано, що він є специфічним білком, необхідним для синтезу лактози з галактози і глюкози.

#### 1.4. Імуноглобуліни

У звичайному молоці імуноглобулінів міститься мало (близько 10%), в молозиві вони складають основну масу (до 90%) сироваткових білків. Імуноглобуліни об'єднують групу високомолекулярних білків, що володіють властивостями антитіл [1].

Антитіла - речовини, що утворюються в організмі тварини при введенні в нього різних чужорідних білків (антигенів) і нейтралізують їх шкідливу дію[1]. Отже, виділення антитіл пов'язане з імунними реакціями організму.

					Огляд літератури	Арк.
						14
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		

Імуноглобуліни молока володіють різко вираженими властивостями агглютинінів (отлат. Agglutinare - приклеювати) - речовин, що викликають склеювання і випадання в осад мікробів і інших клітинних елементів.

З молозива і молока виділені чотири групи імуноглобулінів (Іг): G, A, M і E. Основна частина імуноглобулінів коров'ячого молока відноситься до групи ІЮ. Сильними імунними властивостями володіють ІгА, якими багате жіноче молоко.

Імуноглобуліни молока мають велику молекулярну масу (150 кДа і вище), в своєму складі містять вуглеводи, термолабільні, тобто коагулюють при нагріванні молока до температури вище 70 °С.

### **1.5. Альбумін сироватки крові.**

Альбумін - білок, який не синтезується у клітинах молочної залози, а переходить у молоко із крові. Вміст його складає 0,04 % (8% від вмісту сироваткових білків). Це достатньо великий білок з молекулярною масою 66000. Поліпептидний ланцюг складається із 582 амінокислот, містить 17 внутрішньомолекулярних зв'язків і тільки одну вільну сульф-гідридну групу. Альбумін сироватки крові – термолабільний білок, при температурі 40...50 °С відбувається його часткова денатурація, звільнюються гідрофобні ділянки, що призводить до агрегації і осадження [1].

### **1.6. Мінорні білки.**

До них відносять лактоферин, церулоплазмін,  $\beta_2$ - мікроглобулін і протезо-пептони. Вони містяться у незначних кількостях, але виконують важливі функції. Властивості деяких мінорних білків ще не зовсім вивчені, тому порівнюють з аналогічними білками сироватки крові людини.

### **1.7. Лактоферин.**

					Огляд літератури	Арк.
						15
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		



Вміст у молоці складає від 0,002 до 0,010 % (біля 0,5% сироваткових білків) [1]. Лактоферин є глікопротеїдом, який зв'язує залізо. Молекулярна маса його 76500. Розшефрована первинна структура лактоферіту. Це одно ланцюговий білок, який включає 689 амінокислот, має 17 дисульфідних зв'язків. За структурою і функціями він схожий до трансферу крові, але відрізняється від нього послідовністю амінокислот у ланцюзі і молекулярною масою. Виконує важливі біологічні функції. Транспортує залізо, регулює його надходження до організму дитинчати. Крім того має антимікробну та антивірусну активність.

Лактоферин синтезується у клітинах молочної залози.

### **1.8. Використання сироваткових білків в дитячому харчуванні.**

Жіноче молоко відрізняється від коров'ячого вмістом білків і лактози, але не кількістю жиру. У жіночому молоці знаходиться і середньому 1,0% білка, проте його ко-личество може коливатися від 0,8 до 2,0%. Але в основному це сироваткові білки, казеїну лише 0,4 - 0,6%.

За кількістю незамінних амінокислот в жіночому і коров'ячому молоці немає суттєвої різниці. У жіночому молоці міститься лактози до 7%, що значно більше, ніж у коров'ячому

Удосконалення технології дитячих і створення нових дієтичних продуктів стало можливим внаслідок розвитку і впровадження у виробництво мембранної техніки, технології та біотехнології. В даний час в нашій країні розроблено понад 20 видів продуктів для дітей у віці від 1 року до 3 років, в тому числі продукти для харчування хворих, дітей. У створенні нових біологічно повноцінних продуктів дитячого і дієтичного харчування широке поширення знайшли сироваткові білки, їх гідролізат, збагачення якими сприяє підвищенню біологічної цінності продукту.

При створенні молочних продуктів - замінників жіночого молока, для приведення у відповідність білкового інгредієнта, в коров'яче молоко вносять де-

					Огляд літератури	Арк.
						16
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		

мінералізовані сироваткові білки. Це пов'язано з тим, що жіноче молоко на відміну від коров'ячого містить значно більшу кількість си-вороточних білків і процентне співвідношення між ними і казеїном складають приблизно 60:40, в той час, як в коров'ячому - 20:80. У нашій країні і за кордоном розроблена технологія і випускається досить широкий асортимент дитячих сухих і рідких продуктів, які за білковим складом максимально наближені до жіночого молока. До таких продуктів відносяться: "Виталакт-ДМ", "Семілак". "Ладушка", "Новолакт " "Монолакт "і ін.

При вживанні молочних продуктів з скоригованим білковим складом в значній мірі полегшуються процеси травлення у дітей. З білкових, компонентів в даний час знайшли застосування концентрати сироваткових білків. КСБ-УФ, КСБ-УФЕД, сироватка демінералізована суха СД-ЕД, суха гуманізується добавка СГД-2. У жіночому молоці міститься в 3 - 4 рази менше основних мікроелементів і в 6 разів менше фосфору.

Співвідношення калію і натрію в жіночому і коров'ячому молоці майже однаково і становить 3: 1, але абсолютна кількість мікроелементів в коров'ячому молоці набагато вище, що необхідно враховувати при виробництві дитячих продуктів. Корикування мінерального складу при виробництві продуктів для дітей грудного віку проводять введенням демінералізовану компонентів. В даний час а як таких компонентів використовують концентрати білків молочної сироватки, демінералізовану методами діалізація і електродіаліз.

Одна з особливостей цих продуктів - використання при їх виробленні сироваткових концентратів, розроблених НВО "Углич". Згущене суміш, що складається з молока, вершків, кукурудзяної олії, солодового екстракту або кукурузної патоки, сухий демінералізованої сироватки або сироваткового білкового концентрату, рафінованого молочного цукру, вітамінів, мінеральних солей, сушать на розпилювальної сушильної установки.

"Біфідолакт" (ТУ 49 1001-82), призначеного для вигодовування здорових дітей і дітей з деякими захворюваннями. Продукт виробляється з коров'ячого

					Огляд літератури	Арк.
						17
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		

молока, збагаченого чистими культурами біфідобактерій, з додаванням вершків, рослинного масла, солодового екстракту, концентрату сироваткових білків, молочного цукру, крохмалю, вітамінів: А, Д2, Е, С, РР, В6 і препарату заліза.

"Росток" і "Росток - 1" виробляються з натуральної сировини, включаючого незбиране молоко, вершки, кукурудзяне масло, солодовий екстракт, молочний цукор, кукурудзяний крохмаль, вітаміни, мінеральні солі, суху демінерів-лізовану сироватку або сироватковий білковий концентрат, лізоцим ("Ро-сток-1"), закваску, приготовлену на чистих культурах ацидофільних паличок.

Додавання сироваткових білків в знежирене молоко сприяє інтенсифікації росту культури ацидофільних паличок. З перших годин роз-ку культури спостерігається більш високий вміст клітин і воно збереглося протягом усього періоду культивування.

Спостерігалось поступове збільшення кількості клітин до моменту згортання (через 6 годин). У молоці, що містить 5% демінералізованої сухої сироватки, отриманої методом електродіаліз, спостерігається максимальний урожай клітин. У молоці з додаванням сироваткового білкового концентрату, отриманого за допомогою ультрафільтрації та електродіаліз, процес розвитку *Lactobacillus acidophilum* протікає більш повільно без різких коливань.

Зі збільшенням дози білків зростає кількість клітин і титруемая кислотність. У молоці з додаванням сироваткового білкового концентрату, отриманого за допомогою ультрафільтрації та електродіаліз, процес розвитку *Lactobacillus acidophilum* протікає більш повільно без різких коливань. Зі збільшенням дози білків зростає кількість клітин і титруемая кислотність.

### **1.9. Сироваткові білки в ентеральному харчуванні.**

Особливості харчування хворих і відносяться до групи ризику людей такі, що вимагають виробництва особливої категорії лікувальних продуктів [3]. До таких продуктів відносяться, по-перше, продукти харчування дітей першого року

					Огляд літератури	Арк.
						18
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		

життя, які страждають непереносимістю молочного білка. По-друге, це група продуктів ентерального харчування, застосування яких має величезне значення при наявності таких захворювань, як порушення травної функції і пошкодження шлунково-кишкового тракту, важкий сепсис і ін. [3].

Білкові компоненти в таких продуктах повинні бути представлені у вигляді білкових концентратів, ізолятів або їх гідролізатів, а також пептидів і амінокислот. Якість білкових гідролізатів, призначених для різних видів лікувального і дієтичного харчування, в значній мірі обумовлюється обраним способом проведення гідролізу і ступенем подальшого очищення одержуваного гідролізату. Для цільового призначення, в окремих випадках, продукти гідролізу піддаються фракціонуванню. Найбільш широко відомі два способи гідролізу білків: кислотний і ферментативний, рідше використовується гідроліз лугами.

#### **1.10. Використання сироваткових білків в лікувально-дієтичних продуктах.**

Технологія виробництва більшості білкових продуктів з молочної сироватки заснована на виділенні сироваткових білків відцентровим або іншим способом після їх коагуляції внаслідок теплового впливу і зміни кислотності.

Виділені білки сироватки обробляють, збагачують різними добавками і використовують у виробництві продуктів лікувально-профілактичного та дієтичного харчування в пастоподібному або сухому вигляді.

Серед білкових дієтичних продуктів, до складу яких входять денатуровані сироваткові білки, сир, альбумінний "Надугі", що виробляється з сироватки, одержуваної при виробництві сичужних сирів, додаванням смакових наповнювачів або без додавання. Цей дієтичний продукт призначений для безпосереднього вживання в їжу [4].

Іншим, дієтичним білковим продуктом є сир альбумінний. Для отримання альбуміну сиру в охолоджене альбуміну молоко (26-30 ° С) вносять 2,5% закваски

					Огляд літератури	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		19

Str. lactis і 0,5% Bact. Acidophilum [4]. Суміш перемішують і відпресовують до вологості 75 - 80%. Зберігають продукт при 3-5 ° С. Альбумінний сир можна вживати в їжу або збагачувати наповнювачами.

### 1.11. Альбумін-казеїновий концентрат

Альбумін-казеїновий концентрат виробляють з молочної сироватки (85%) і знежиреного молока (15%).

Молочну сироватку пастеризують, охолоджують, квасять, нагрівають і змішують зі знежиреним молоком для спільної коагуляції сироваткових білків і казеїну, потім суміш охолоджують і сепарують з метою виділення білкової маси. Отримана білкова маса диспергується на колоїдній млині і висушується на розпилювальної сушильної установки [4].

Фізико-хімічні та мікробіологічні показники сухого альбуміну-казеїнового концентрату показані в табл. 1.2.

Таблиця 1.2.

#### Фізико-хімічні та мікробіологічні показники сухого альбуміну-казеїнового концентрату

Назва показника	Норма
Масова частка вологи, %	6,0 – 10,0
Масова частка білку, %	85,0 – 89,0
Масова частка жиру, %	0,5 – 1,5
Масова частка лактози, %	0,5 – 1,5
Масова частка мінеральних речовин, %	3,0 – 4,0
Натрій	200
Калій	380
Кальцій	600

					Огляд літератури	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		20

Магній	120
Фосфор	960
Залізо	20
Активна кислотність водного розчину, концентрату рН	5,8 – 6,2
Індекс розчинності, мл сирого осаду	3,2 – 5,0
Гідрофільність ,мл/г	8,0 – 8,5
Густина, кг/м <sup>3</sup>	1440 – 1480

Аналіз фізико-хімічних показників дозволяє зробити висновок, що альбумін-казеїновий концентрат за вмістом білка перевершує той, що випускають у вітчизняній промисловості молочно-білкові концентрати, в той же час в порівнянні про ними вміст золи, жиру і лактози значно нижче. З основних показників якості альбумін-казеїновий концентрат поступається тільки за ступенем розчинності у водних розчинах.

Результати клінічних випробувань сухого альбумін-казеїнового концентрату для дитячого лікувального харчування дали позитивні результати. Концентрат рекомендований до застосування в якості білкового догодовування в комплексному лікуванні дітей раннього віку хворих гіпотрофією

					Огляд літератури	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		21

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 2.2. Гель-фільтрація білків сироватки молока.

В роботі використовували свіже знежирене молоко. Знежирення проводили на центрифугі ОПН-8 (4000 об./хв, 10 хвилин) двічі. Препарат протеїнів казеїнового комплексу отримували осадження в ізоелектричній точці [8]. Сироватку молока виділяли центрифугування знежиреного молока (5000 об./хв, 10 хвилин) після ізоелектричного осадження казеїнів. Процедуру повторювали двічі.

Як маркерні протеїни в електрофоретичних дослідженнях використовували альбумін сироватки крові бика (BSA) фірми «Sigma» і  $\beta$ -лактоглобулін коров'ячого молока ( $\beta$ -LG). Гомогенний  $\beta$ -LG виділяли з сироватки молока шляхом повторної гель-фільтрації на колонці з сефадексом G-100 [8]. Білки сироватки молока відрізняються суттєво за своїми молекулярними масами. Вони не утворюють надмолекулярних структур і є глобулярними білками. Ці властивості сприяють їх розподіленню при гель-фільтрації.

Проте білки сироватки є дуже гетерогенним і окрім декількох основних фракцій включають багато мінорних білків. У зв'язку з цим класична гель-фільтрація не може забезпечити виділення гомогенних фракцій з білків сироватки. Скоріше вдається отримати групи фракцій, з яких можна виділити гомогенні білки повторною гель-фільтрацією або іншими методами.

					<i>18-156 ДР</i>			
<i>Зм.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дат</i>				
<i>Розроб.</i>	Лучканін Н.В.				<i>Матеріали і методи досліджень</i>	<i>Лит.</i>	<i>Лист</i>	<i>Листів</i>
<i>Перевірів</i>	Юкало В.Г.						22	
<i>Консул.</i>						<i>ТНТУ, ФМТ гр МЛм-61</i>		
<i>Зав каф.</i>	Покотило.О. С							

Однією з найбільш ефективних матриць для гель-фільтрації білків сироватки молока є сефадекс G-150. При цьому можна отримати чотири хроматографічні фракції з різними групами білків. Дезагрегуючі агенти (сечовина, детергенти, 2-мертаптоетанол) не використовують. Значення рН для хроматографічного буферу повинно бути не менше 7,5, щоб унеможливити утворення димерів  $\beta$ -лактоглобуліна.

Нижче ми описали хід фракціонування.

Для фракціонування відбирають 7 см<sup>3</sup> свіжої сироватки після охолодження казеїнів, фільтрують або центрифугують (5000 об./хв, 10 хв). Очищену сироватку вносять у хроматографічну колонку (1,5×70 см), заповнену сефадексом G-150, зрівноважену тріс-гліцерином буфером для диск-електрофорезу (рН 8,3). Встановлюють швидкість елюції 20-25 см<sup>3</sup>/год. У пробірку відбирають по 4 см<sup>3</sup> елюату. Концентрацію білків у кожній пробірці визначають спектрофотометрично при довжині хвилі 280 нм. Результати гель-фільтрації представляють у вигляді хроматографи (графік залежності концентрації білків від номеру пробірки).

Вміст пробірки із заштрихованих секторів об'єднували і аналізували диск-електрофорезом у нативних умовах. На першій хроматографічній фракції включає імуноглобуліни, лактоферин і альбумін сироватки крові. Друга фракція переважно містить  $\beta$ -лактоглобуліна, а третя – суміш а-лактальбуміну і  $\beta$ -лактоглобуліну. У четвертій фракції містяться низькомолекулярні компоненти протеозо-пептонної фракції, а також не білкового нітрогену, які не затримуються в акриламідному гелі і відповідно не проявляються. Повторна гель-фільтрація отриманих фракцій дозволяє виділити гомогенні імуноглобуліни і  $\beta$ -лактоглобулін.

Для гель-фільтрації використовували сефадекс фірми «Pharmacia».

Буферні розчини і поліакриламідні гелі для електрофорезу готували з використанням реактивів фірми «Reanal» і вітчизняних реактивів високого ступення очищення.

					Матеріали і методи досліджень	Арк.
						23
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		



### 2.3. Електрофорез сироватки молока.

При виборі електрофоретичної системи для експрес-аналізу протеїнів сироватки молока використовували електрофоретичну систему диск-електрофорезу Б. Девіса у нативних умовах для кислих і нейтральних протеїнів [15]. Білки сироватки молока є високо гетерогенними, водорозчинними глобулярними білками. Фракції білків сироватки суттєво відрізняються між собою за молекулярними масами і зарядами молекул при нейтральних і слабколужних значеннях рН середовища. У зв'язку з цим для їх аналізу рекомендують використовувати диск-електрофорезу у присутності або без ДСН. Електрофоретична система за присутності ДСН дає хороші результати розділення білків сироватки молока. Причому отримані молекулярні маси близькі до значень, розрахованих на основі первинної структури, також для аналізу білків сироватки молока можна використовувати систему нативного диск-електрофорезу для нейтральних і кислих білків.

При цьому білків розділяються за електрофоретичною рухливістю у слабо лужному середовищі. Електрофорез можна проводити у вертикальних пластинах ПАГ і в стовпчиках гелю. В даній роботі ми будемо аналізувати білки сироватки молока в системі нативного диск-електрофорезу в апараті фірми «Reanel» (Угорщина) з трубочками для ПАГ . Система диск-електрофорезу за рахунок концентруючого гелю забезпечує високу ефективність розділення, що є важливим при наявності в сироватці молока великої кількості фракцій (особливо мінорних).

За основу взято електрофоретичну систему нативного диск-електрофорезу для кислих і нейтральних білків Б. Девіса. Незначні зміни нами внесені у склад концентруючого гелю. Перед проведенням аналізу необхідно приготувати наступні реактиви:

1. Складові частини розділяючого гелю (рН 8,9)

1 Н НСІ – 24 см<sup>3</sup>                      Акриламід (АА) – 15 г Персульфат амонію (ПАС) -  
ТРИС – 18,3 г                      Метиленбісакриламід підбирали

					Матеріали і методи досліджень	Арк.
						24
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		

ТЕМЕД – 0,115 см	(МБА) – 0,4 г	експериментально
50 см <sup>3</sup> H <sub>2</sub> O	до 50 см <sup>3</sup> H <sub>2</sub> O	до 50 см <sup>3</sup> H <sub>2</sub> O

1 частина

2 частина

5 частина

2. Складові частини концентрую чого гелю (рН 6,9) :

1 Н НСІ – 24 см <sup>3</sup>	АА – 15 г	Сахароза – 20 г	(ПАС) – підбирали
ТРІС – 2,99 г	МБА – 0,4 г		експериментально
ТЕМЕД – 0,115 см <sup>3</sup>			

до 50 см<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O

до 50 см<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O

до 50 см<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O

до 20 см<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O

1 частина

2 частина

4 частина

1 частина

3. Електронний буфер (рН 8,3) включає (перед використанням розводити в 10 разів) :

ТРІС – 18,3 г

Гліцерин – 28,9 г

до 1000 см<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O

Як взірець для аналізу використовують діалізовану проти електродного буферу молочну сироватку після ізоелектричного осадження казеїну. Для збільшення густини взірця додають сахарозу і як сигнальний барвник – бромфеноловий синій.

Нижче наведений опис проведення електрофоретичного аналізу.

Полімеризація ПАГ проводять у скляних трубочках, закріплених на спеціальній підставці. Спочатку піпеткою вносять розділюючий гель, попередньо приготовлений у мірному циліндрі і ретельно перемішаний.

Для утворення рівної верхньої границі зверху акуратно нашаровують дистильовану воду (0,3 см<sup>3</sup>).

					Матеріали і методи досліджень	Арк. 25
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		

Після полімеризації воду видаляють і вносять в трубочку розчин компонентів концентрую чого гелю і теж нашаровують дистильовану воду. Після закінчення полімеризації концентрую чого гелю видаляють воду, а трубочки вкручують в отвори дна верхнього резервуару для електродного буферу. З'єднують обидва резервуари і заповнюють електродним буфером.

Взірець (0,1 см<sup>3</sup>) вносять під буфер у трубочку мікрошприцом. Апарат підключають до джерела постійного струму. До входження взірця в концентруючий гель встановлюють силу струму 1,5-2 мА на трубочку, а після входження силу струму збільшують до 4-5 мА на трубочку. Завершують електрофорез після досягнення сигнальним барвником нижньої границі розділяючого гелю. Далі трубочки викручують з апарату і з допомогою шприца з дистильованою водою з них дістають стовпчики гелю. Гелі розміщують в окремі пробірки і заливають барвником (амідочорний 10Б (10 хв) або кумасі R-250 (60 хв)). Після забарвлення барвник відмивають 7 % оцтовою кислотою. Гелі зберігають в 7 % оцтовій кислоті.

Результати електрофорезу оформляють у вигляді фотографії гелю (електрофореграми) або схема розміщення білкових фракцій. Фракції білків сироватки молока на електрофореграмі ідентифікують за відстанню, яку вони проходили у гелі, або з допомогою маркерних білків (очищених індивідуальних білків сироватки молока ).

					Матеріали і методи досліджень	Арк.
						26
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		

## РОЗДІЛ 3

### РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

#### 3.1. Електрофорез протеїнів сироватки молока

Було проведено електрофорез протеїнів сироватки молока з допомогою відомих електрофоретичних систем, які раніше використовувалися для аналізу протеїнів молока. Результати аналізу показані на рисунку 3.1.1.

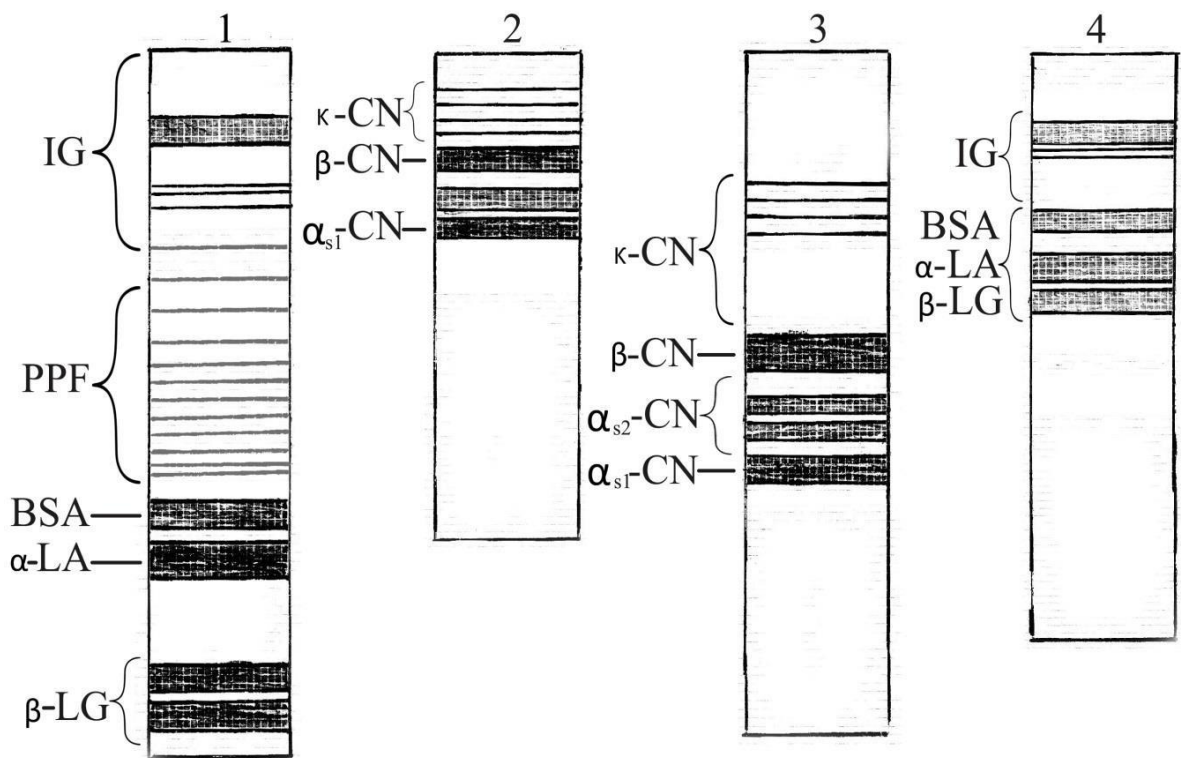


Рис.3.1.1. Електрофореграми протеїнів молока в різних електрофоретичних системах.

					<i>18-156 ДР</i>			
Зм.	Лис	№ докум.	Підпис	Дат	<i>Результати власних досліджень та їх обговорення</i>	Лист.	Лист	Листів
Розроб.	Лучканін Н.В.						27	
Перевірів	Юкало В.Г.							
Консул.								
Зав каф.	Покотило.О.С.					<i>ТНТУ, ФМТ гр МЛМ-61</i>		

З рисунку 3.1.1. видно характерну картину розділення протеїнів сироватки молока аналітичним диск-електрофорезом в нативних умовах в стопчиках ПАГ на електрофореграмі.

Під номером 1 на рисунку 3.1.1. позначені протеїни сироватки молока в аналітичній диск-електрофоретичній системі; 2 – протеїни казеїнового комплексу молока в експрес-системі однорідного ПАГ у присутності сечовини; 3- протеїни казеїнового комплексу молока в аналітичній системі однорідного ПАГ у присутності сечовини; 4 - протеїни сироватки молока в експрес-системі однорідного ПАГ у присутності сечовини.

Також ідентифіковані всі основні протеїнові фракції (вставити  $\beta$ т – LG,  $\alpha$ -LA, BSA, IG), а також протеозо-пептонна фракція (PPF). Для ідентифікації були використані індивідуальні протеїни сироватки молока, отримані повторною геле-фільтрацією на сефадексі G-100.

Система у методі, що був розроблений для експрес аналізу протеїнів молока, зокрема протеїнів казеїнового комплексу на основі аналітичної анодної системи однорідного ПАГ у присутності сечовини дозволяє надійно ідентифікувати всі казеїнові фракції, які відрізняються первинною структурою. Також з рисунку 3.1.1. видно, що смуги протеїнів сироватки молока розмиті і погано ідентифікуються на електрофореграмі.

Для подальших досліджень було вибрано як базу диск-електрофоретичну систему в нативних умовах на основі отриманих результатів.

Ми провели порівняльний аналітичний диск-електрофорез в пластинці ПАГ двох взірців сироватки молока:

- 1) Гомогенна фракція бета LG
- 2) Фракції BSA

Результати аналітичного диск-електрофорезу показані на рисунку 3.1.2.

					Результати власних досліджень	Арк.
						28
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		

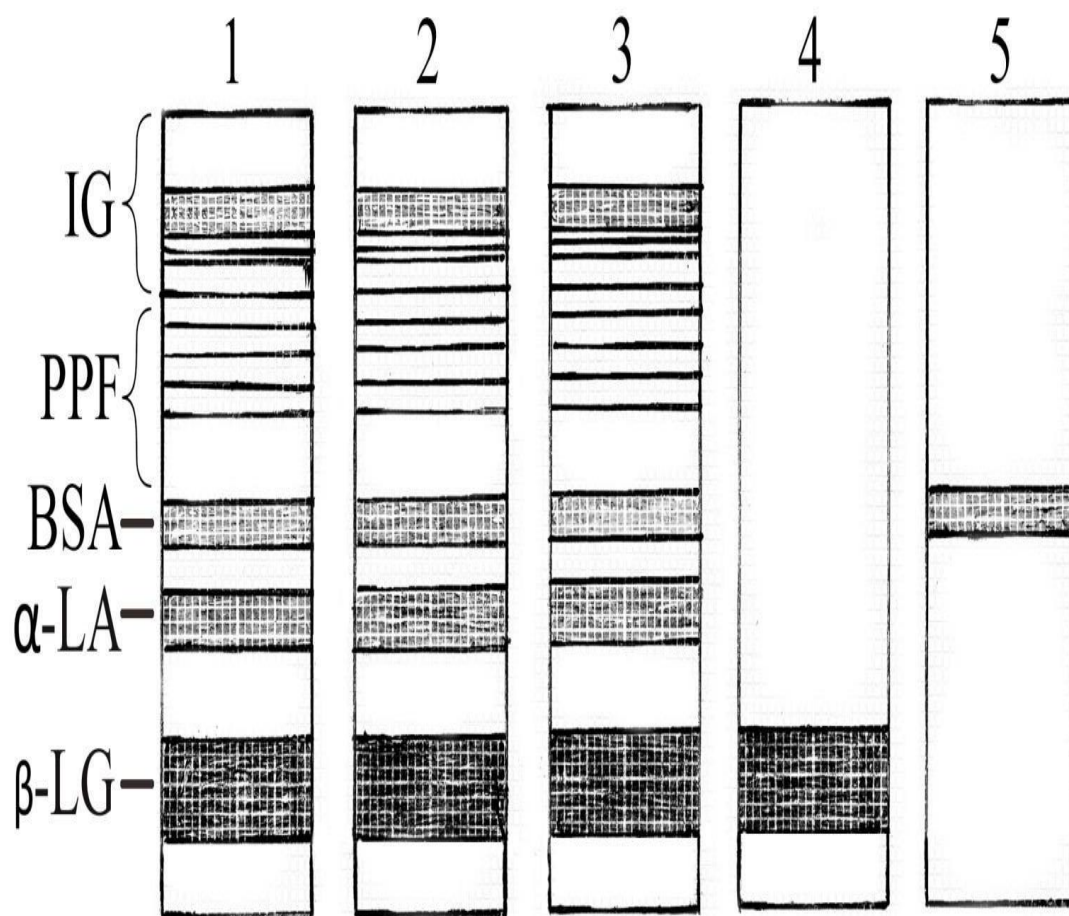
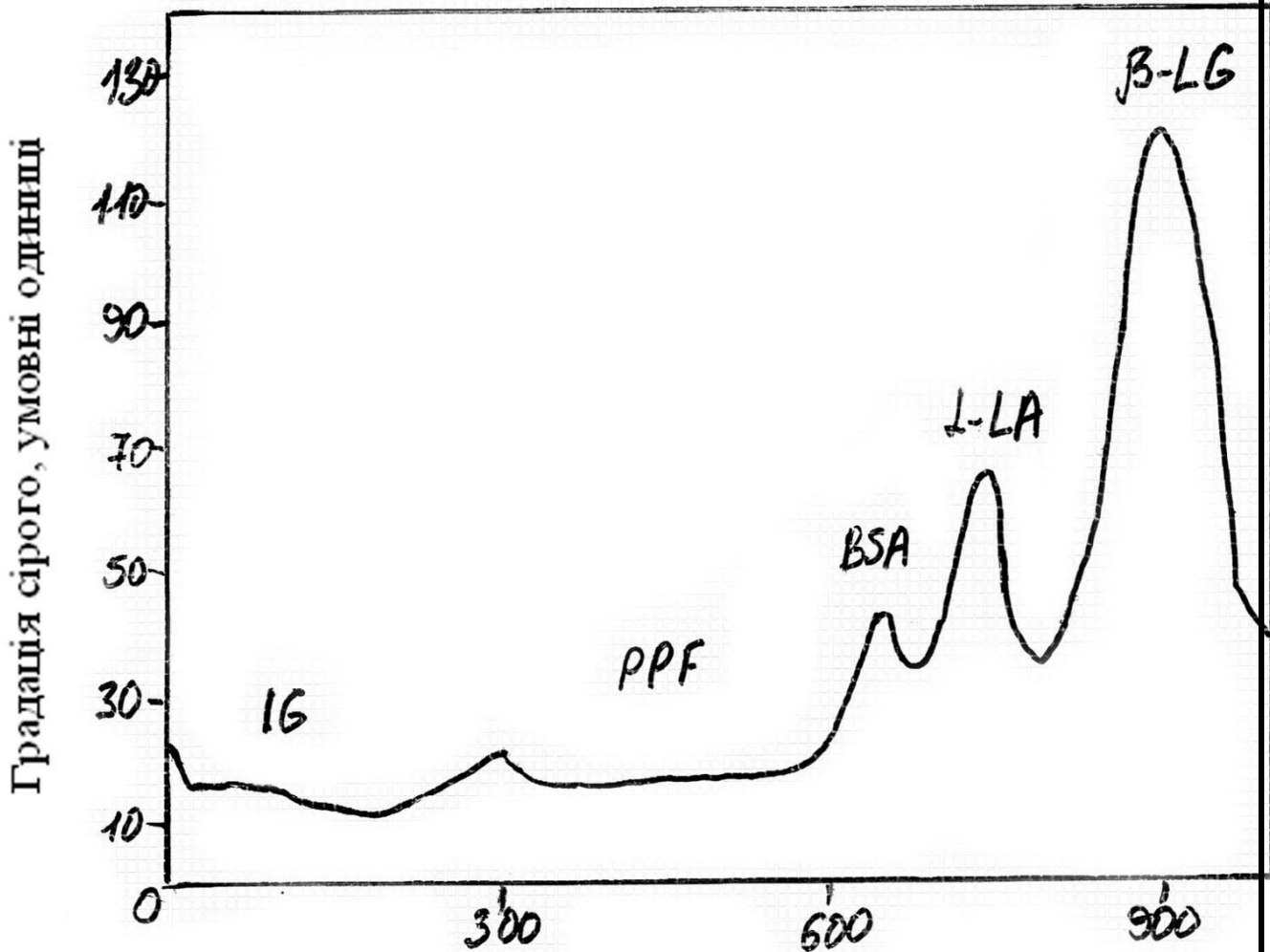


Рис. 1.3.2. Електрофореграми трьох зрізів сироватки молока в системі аналітичного диск-електрофорезу.

Нами було ідентифіковано всі основні фракції які розділяються в даній системі за допомогою маркерних протеїнів. На рисунку 3.1.3 показана денситограма другого зрізця протеїнів сироватки, що підтверджує ефективність розділення.



### Довжина фрагменту електрофореграми, піксель

Рисунок 3.1.3. Денситограма другого взірця протеїнів сироватки.

Використовували розділяючий гель аналітичної системи диск-електрофорезу із зменшеною концентрацією акриламідру для сторення експрес-методу. Також зменшили тривалість електрофорезу до 35 хвилин . Внесли зміни у процеси фіксування і забарвлення пластинок гелю, ці процеси проходили одночасно трьох хвилин, що зменшило тривалість відмивання. При інтенсивному відмиванні можна ідентифікувати протеїнові фракції вже через 25–30 хвилин.

Результати експрес-аналізу трьох зразків сироватки молока і протеїнів казеїнового комплексу зображені на рисунку 3.1.4 .







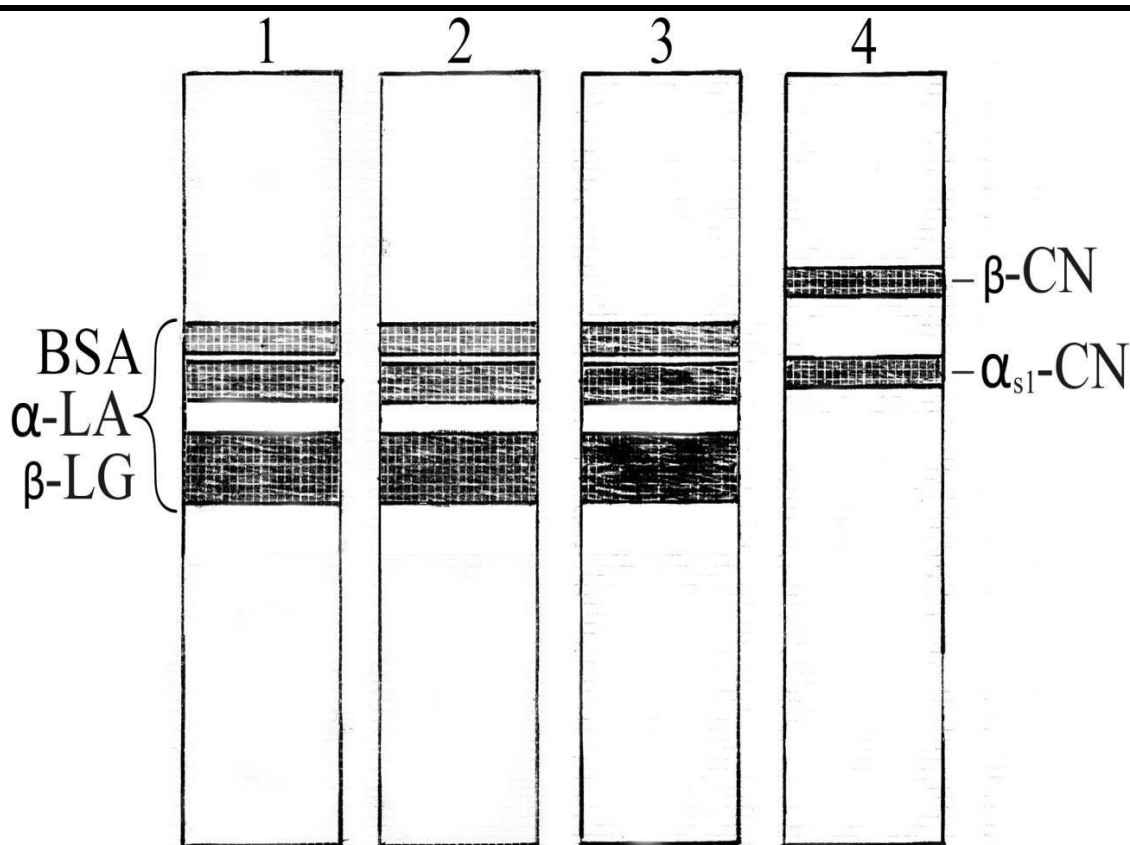


Рис. 3.1.6. Електрофореграми трьох зрізів сироватки молока і протеїнів казеїнового комплексу отримані експрес-електрофорезом в запропонованій системі для пластинок однорідного ПАГ в присутності 4,5 М сечовини

Щоб дослідити вплив сечовини на молочні протеїни ми додали 4,5 М сечовину в склад гелю та провели електрофоретичний аналіз.

З рисунку 3.1.6 видно, що молочних протеїнів, які містять казеїни підлягають розчиненню під дією 4,5 М розчин сечовини.

Чіткість казеїнових фракцій зросла на електрофореграмі, смуги протеїнів сироватки молока розмиті, змінилося співвідношення вмісту протеїнових фракцій.

Всі попередні електрофореграми були отримані при використанні барвника амідочорного 10 В.

В наступних дослідженнях був використаний барвник G-250.

					Результати власних досліджень	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		33

На рисунку 3.1.7 зображена експрес-електрофореграма трьох взірців сироватки молока і казеїнового комплексу при використанні барвника кумасі G-250.

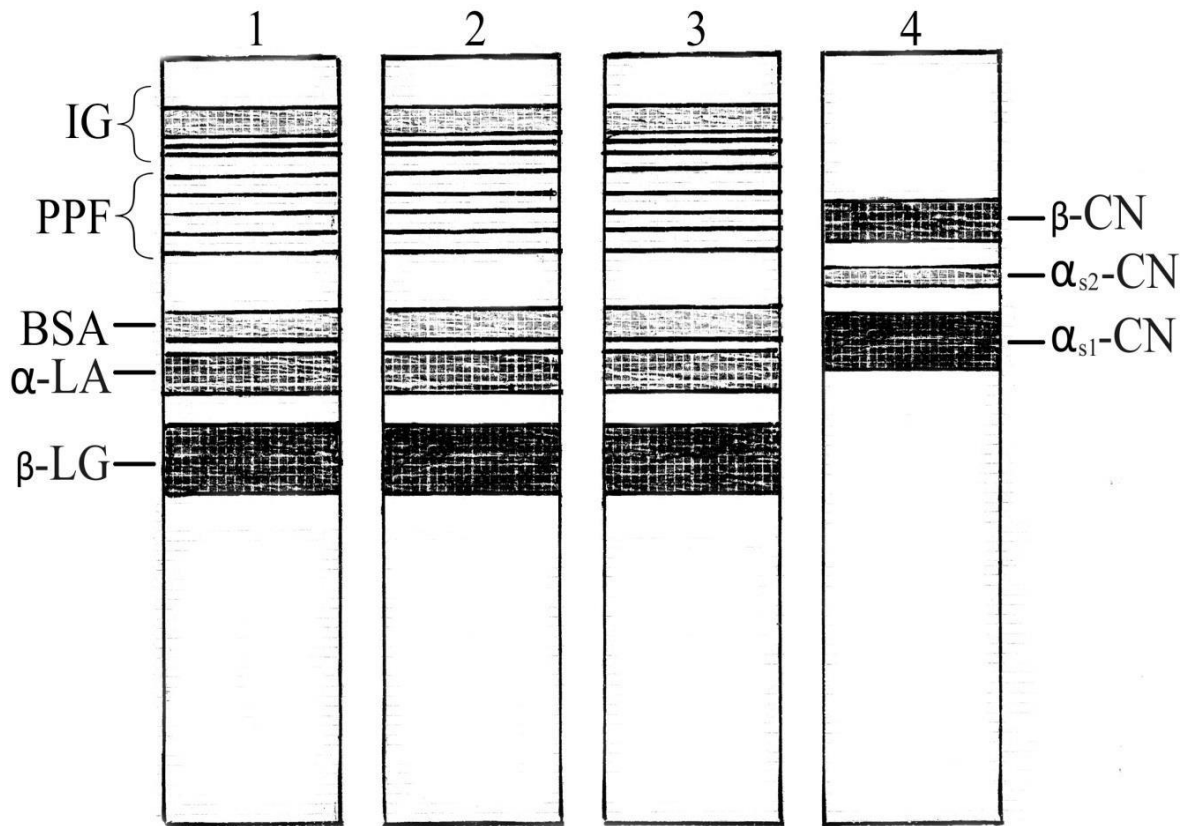


Рис.3.1.7. Експрес-електрофореграма трьох взірців сироватки молока і казеїнового комплексу при використанні барвника кумасі G-250.

З рисунку 3.1.7 видно, що забарвлення протеїнових смуг інтенсивне. При цьому на електрофореграмі протеїнів сироватки молока з'явилися додаткові смуги мінорних фракцій. Процес відмивання фракцій від барвника кумасі G-250 триваліший, ніж від барвника амідочорного 10 В.

На рисунку 3.1.8 зображені результати електрофорезу п'яти взірців сироватки, отриманих з однієї партії молока, що був проведений для перевірки відтворюваності результатів.

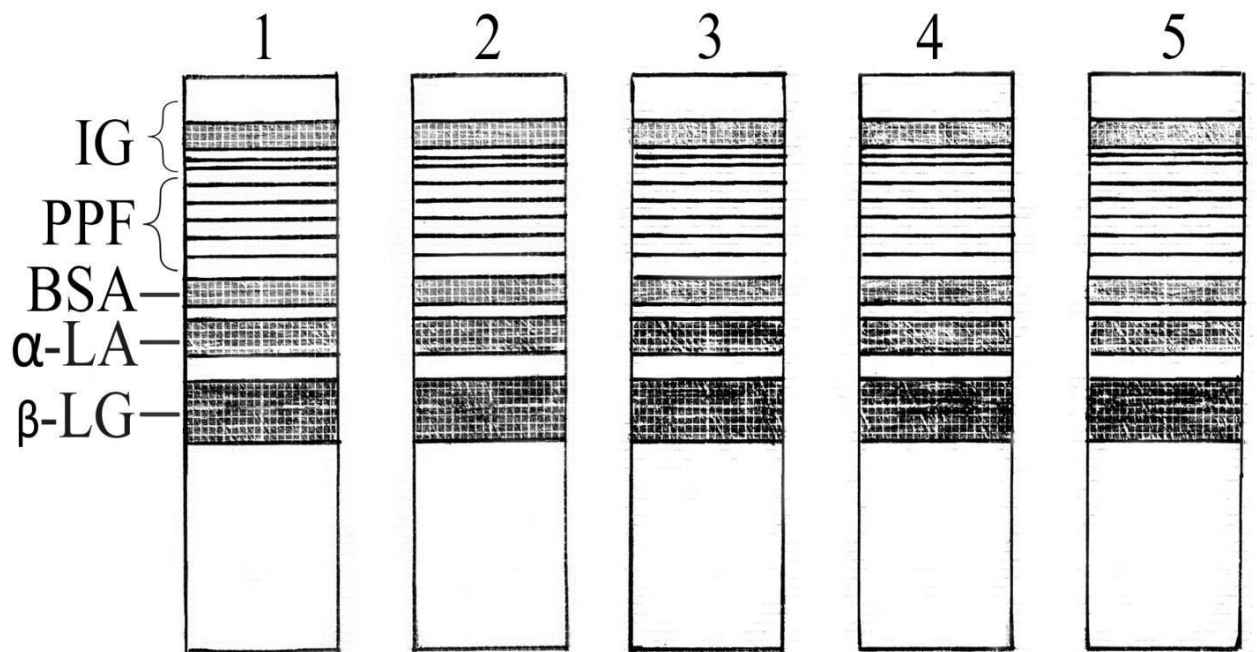
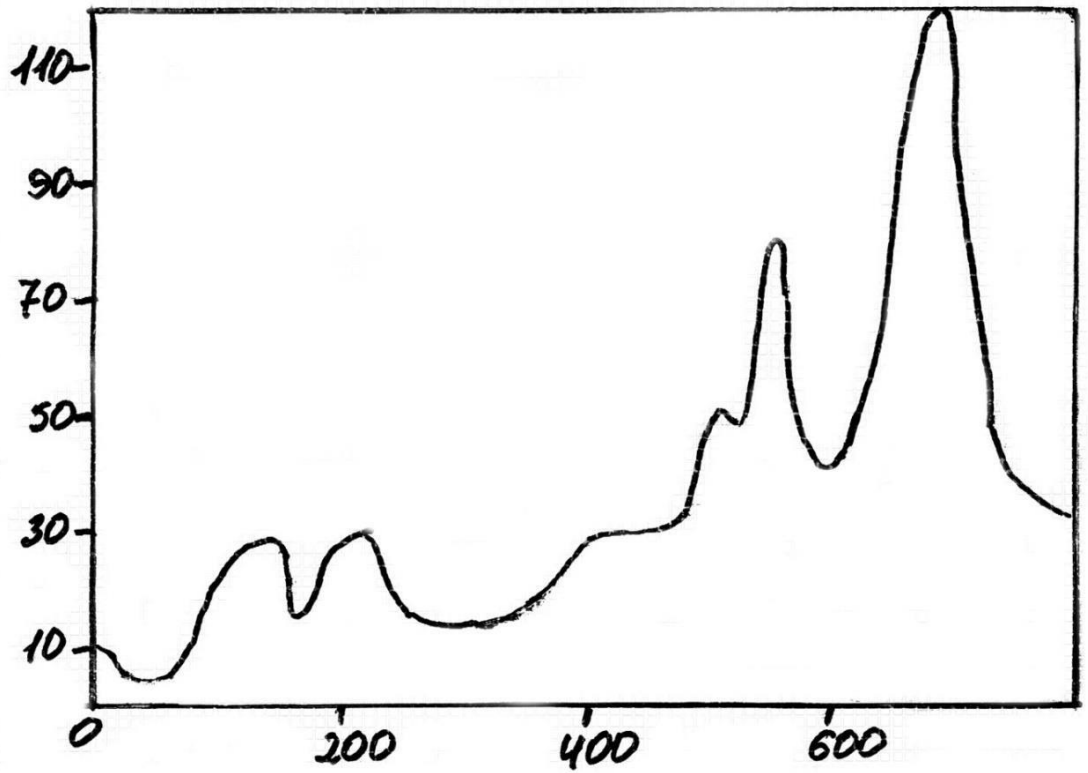


Рис. 3.1.8. Експрес-електрофорез п'яти зрізів сироватки молока  
 Всі п'ять зрізів аналізували в однакових умовах електрофорезу.  
 Побудували денситограми для кожного зрізця. Результати побудованих денситограм зображені на рисунку 3.1.9.

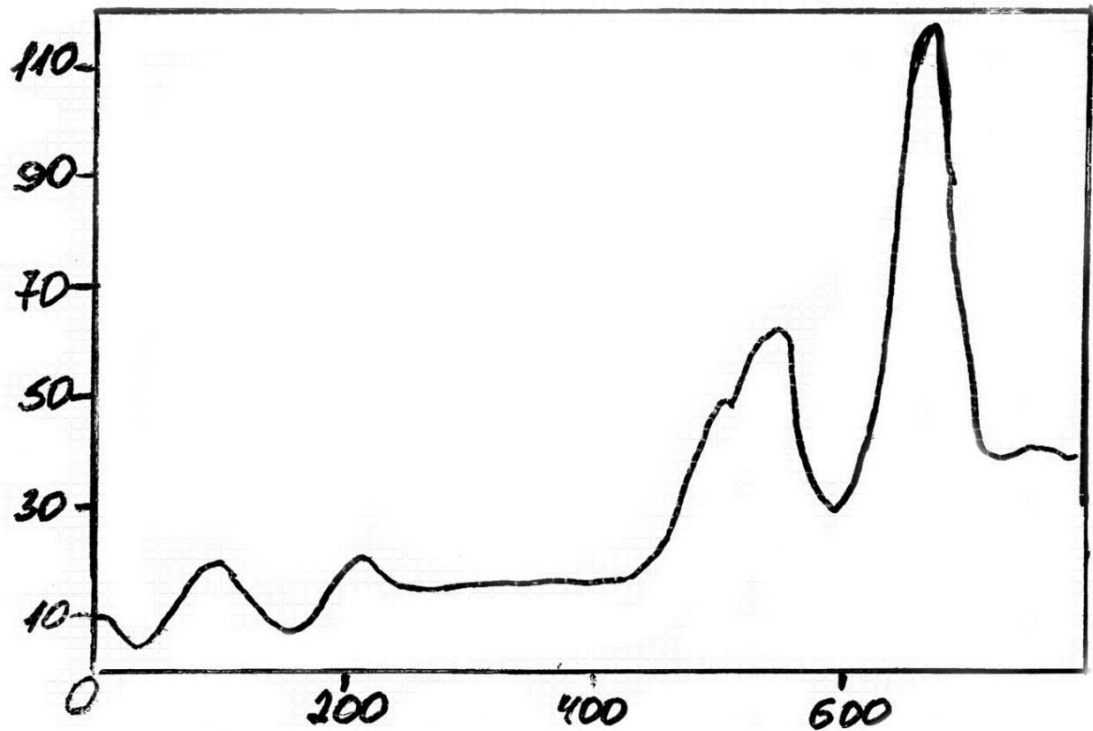


Градація сірого, умовні одиниці



Довжина фрагменту електрофореграми, піксель

Градація сірого, умовні одиниці



Довжина фрагменту електрофореграми, піксель

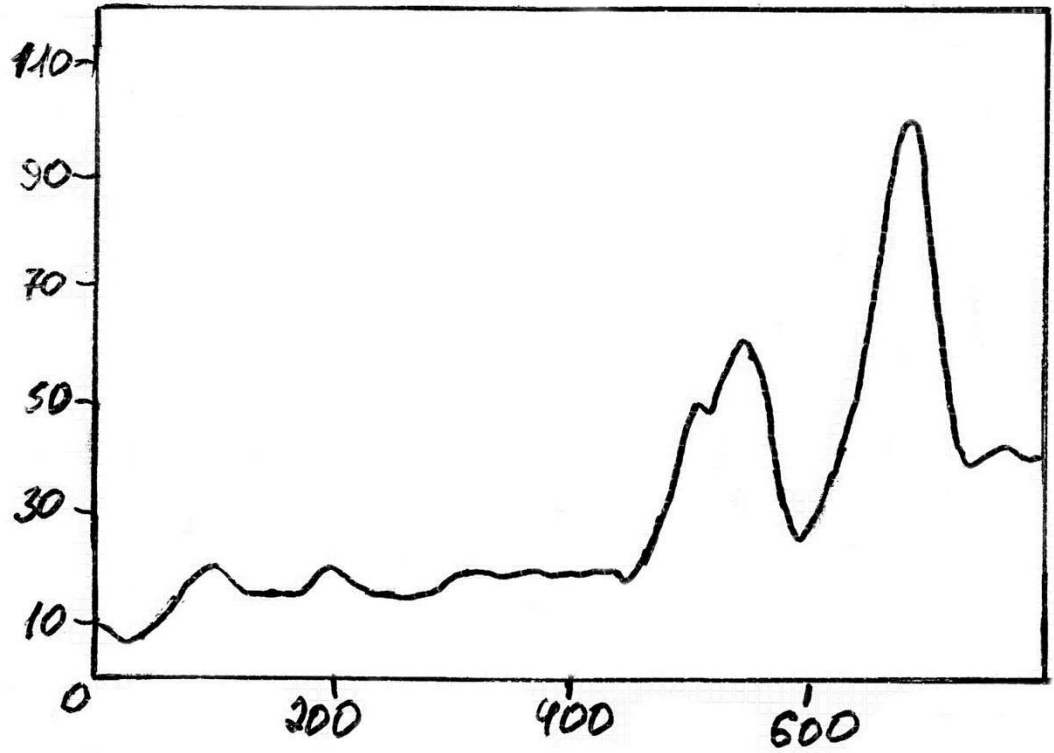
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат

Результати власних досліджень

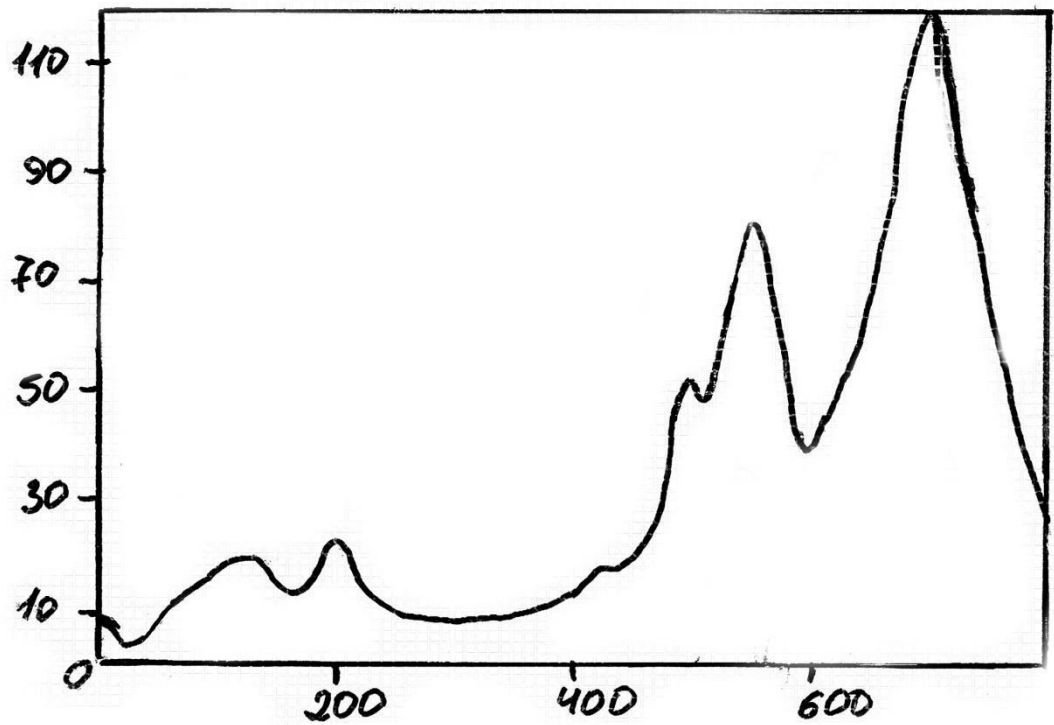
Арк.

36

Градація сірого, умовні одиниці



Градація сірого, умовні одиниці



Довжина фрагменту електрофореграми, піксель

Рис. 3.1.9. Денситограми електрофореграм п'яти зрізів сироватки молока, отриманих експрес-електрофорезом.

					Результати власних досліджень	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		37

На основі отриманих денситограм було проведено розрахунок вмісту кожної протеїнової фракції у взірцях та визначено їх середній вміст і стандартну похибку.

Результати розрахунків наведені у таблиці 3.1.1.

Таблиця 3.1.1.

**Вміст протеїнових фракцій 5-ти видів сироватки молока.**

Взірець сироватки	Фракції протеїнів сироватки молока			
	IG	BSA	$\alpha$ -La	Фракції протеїнів сироватки молока
1	15	7	16	37
2	17	9	19	42
3	18	9	14	39
4	19	7	15	35
5	20	8	11	41
Середнє значення. ( $M \pm m, n=5$ )	17,8 $\pm$ 1,9	8 $\pm$ 1,1	15 $\pm$ 1,5	38,8 $\pm$ 4,2

**3.2. Обговорення результатів експрес-аналізу фракційного складу протеїнів сироватки**

Для аналізу фракційного складу протеїнів молока найчастіше використовують в різних модифікаціях дві електрофоретичні системи диск-електрофорезу (в присутності ДСН або в нативних умовах) і одну систему однорідного ПАГ у присутності сечовини [39, 40, 41, 42]. На основі системи

					Результати власних досліджень	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		38

однорідного ПАГ з сечовиною розроблена методика для експрес-аналізу протеїнів казеїнового комплексу молока [43].

Як видно з результатів аналізів, розглянуті методи не можуть бути використані для одночасного аналізу всіх протеїнів молока. Дві групи протеїнів молока (казеїни і протеїни сироватки) суттєво відрізняються за своєю будовою і властивостями [39]. Протеїни казеїнового комплексу ефективно розділяються експрес-аналізом на основі електрофоретичної системи однорідного ПАГ з сечовиною, протеїни сироватки молока недостатньо розділяються даним методом. Використання диск-електрофрезу з ДСН призводить до денатурації всіх протеїнів сироватки молока. Відомо, що протеїнові фракції казеїну аномально зв'язують ДСН [40], що є причиною невідповідності між електрофоретичною рухливістю і молекулярною масою фракцій. У такому випадку зразки сироватки з казеїнами важко ідентифікуються. У зв'язку з цим нами було взято за основу систему диск-електрофрезу в нативних умовах для кислих протеїнів [41]. Завдяки аналітичній варіації даної системи у пластинках ПАГ забезпечується надійна ідентифікація основних протеїнових фракцій сироватки молока, а також можливість порівнювати різні зразки при одночасному розділенні. Недолік досліджуваної системи полягає у складності диск-електрофрезу. Щоб адаптувати її до умов експрес-аналізу було внесено наступні зміни: забрали концентруючий ПАГ з відповідним буфером з системи; знизили концентрацію розділяючого гелю на 0,5 %.. Склад буферів електродного та для розділяючого гелю залишили без змін. Збереження ефекту концентрування протеїнів зразка забезпечило високу ефективність розділення.

Верхня частина розділяючого гелю була використана в якості концентруючого гелю. Даний процес можна описати так: молекули протеїнів сироватки та іони гліцину з електродного буферу входять у розділяючий гель, зміна рН на границі між верхнім електродним буфером і розділяючим ПАГ прискорює рух іонів гліцину, що призводить до формування границі розділу між іонами  $Cl^-$  і гліцину, які рухаються до аноду у верхній частині розділяючого ПАГ. .

					Результати власних досліджень	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		39



У випадку диск-електрофорезу протеїни та іони спочатку входять у концентруючий гель [44]. За границею розділу іонів утворюється зона з високою напруженістю електричного поля, де і відбувається концентрування протеїнів зразка, що спостерігаємо через ~7 хвилин після початку електрофорезу в експрес-системі.

Враховуючи невеликий об'єм взірців ми не застосовували окремий буфер для взірців, що дозволило спростити систему в наявних умовах. Результати показали, що забарвлення можна проводити з допомогою більш доступного і дешевшого барвника амідочорного 10 В, що дозволяє виявити всі основні фракції протеїнів сироватки молока. Використання більш чутливого барвника кумасі G-250 на електрофореграмі дозволяє виявити додаткові неідентифіковані смуги мінорних протеїнових фракцій, проте ми встановили, що забарвлення і відмивання амідочорним 10-В тривають швидше. Електрофоретичне знебарвлення пластинок гелю використовували для того, щоб прискорити процес відмивання.

Відомо, що додавання сечовини може покращити розчинність сухих взірців сироватки молока, особливо, коли в них присутні казеїни [44].

При внесенні до складу взірців і ПАГ 4,5 М сечовини значно знизилася ефективність фракціонування протеїнів сироватки, що очевидно пов'язано з їх частковою денатурацією. Це можна зрозуміти з одночасної присутності на електрофореграмах характерних смуг для  $\beta$ -LG і  $\alpha$ -LA та нових розмитих смуг протеїнів. Водночас збільшується якість фракціонування казеїнів. За формою протеїнових смуг, вмістом основних протеїнових фракцій експрес-аналіз п'яти взірців сироватки молока, що проводився одночасно, має високу відтворюваність.

					Результати власних досліджень	Арк.
						40
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		

## ВИСНОВКИ І ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Анодна електрофоретична система однорідного ПАГ, розроблена на основі системи диск-електрофорезу для кислих протеїнів у нативних умовах, дозволяє швидко (70-90 хвилин) і ефективно проводити експрес-аналіз та ідентифікацію основних протеїнових фракцій ( $\beta$ -LG,  $\alpha$ -LA, BSA, PPF і IG) сироватки молока.

2. Високу ефективність фракціонування забезпечує процес концентрування протеїнів взірця, який відбувається у пластинках ПАГ завдяки використанню різниці у складі електродного буферу і буферу для ПАГ.

3. Запропонований спрощений варіант електрофорезу в однорідному гелі для експрес аналізу білків сироватки молока.

4. На різних взірцях сироватки молока доведено хорошу відтворюваність запропонованого методу.

5. Експрес метод можна рекомендувати для серійного аналізу фракційного складу протеїнів сироватки молока.

					<i>Висновки і пропозиції виробництву</i>	<i>Арк.</i>
<i>Змн.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>		41

## РОЗДІЛ 4

### ОБГРУНТУВАННЯ ЕКОНОМІЧНОЇ ЕФЕКТИВНОСТІ

Для підприємств молочної промисловості дуже важливою є проблема максимально ефективно використовувати молочну сировину і зменшувати її відходи. В зв'язку з малим строком зберігання молока слід приділяти особливу увагу організації його заготівлі, зберігання і доставки на переробне підприємство.

Важливе значення має комплексна переробка сировини з повним використанням всіх її складових. В сучасних умовах розвиваються технології виробництва нежирних сирів, дієтичних продуктів харчування із знежиреного молока, що залишається після виготовлення масла, зростає кількість сироватки і замінників цільного молока.

Сироватка має високу харчову і біологічну цінність, в ній багато молочного цукру, білка, мінеральних речовин, але відсутність засобів на впровадження сучасних технологій стримує її промислову переробку в різні продукти: харчові інгредієнти, кормові домішки, лікарсько-профілактичні дієтичні та функціональні продукти, напої, косметичні засоби.

В останні роки зменшилось виробництво традиційних продуктів переробки молочної сироватки – молочного цукру, згущених і сухих сироваточних концентратів, сухої демінералізованої сироватки, сухої безлактозної сироватки, блочної та гранульованої сироватки. Для стабільного економічного зростання галузі молочного скотарства та забезпечення населення молочною продукцією необхідно постійно здійснювати заходи з підвищення ефективності виробництва, покращення якості продукції і зниження її собівартості.

					<i>18-149 ДР</i>			
<i>Зм.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	<i>Обґрунтування економічної ефективності</i>	<i>Лист.</i>	<i>Лист</i>	<i>Листів</i>
<i>Розроб.</i>	Лучканін Н. В.							
<i>Перевірив</i>	Юкало В. Г.						42	
<i>Консул.</i>						<i>ТНТУ, ФМТ, зр. МЛм-61</i>		
<i>Зав каф.</i>	Покотило О.С.							

За останні роки в молоко продуктового підкомплексі намітилися позитивні зрушення: зросла частка сільськогосподарських підприємств у загальному виробництві молока, збільшується кількість великотоварних спеціалізованих формувань, підвищився рівень продуктивності корів, але рівень рентабельності виробництва молока в більшості господарств залишається низьким, а в окремих – виявляється збитковим.

Підвищення ефективності виробництва та формування ринку молока пов'язані також із дальшим удосконаленням роботи молочної промисловості, поліпшенням доведення продукції галузі до споживача. В Україні молокопереробна промисловість представлена 466 підприємствами, які випускають широкий асортимент молочної продукції. Але з незбираного молока виробляється значно менше продукції, ніж потрібно за фізіологічними нормами харчування. Тому поряд із збільшенням виробництва молока, необхідно дбати про своєчасну та якісну його переробку. За умов вільного ринку окремі фермерські господарства, а також підприємства суспільного сектора, які розташовані далеко від великих міст, намагаються самостійно здійснювати переробку молока і реалізацію продукції.

					Обґрунтування економічної ефективності	Арк.
						43
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

## РОЗДІЛ 5

### ОХОРОНА ПРАЦІ ТА БЕЗПЕКА В НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЯХ

#### 5.1. Організація охорони праці на підприємствах.

Роботодавець зобов'язаний створити на робочому місці в кожному структурному підрозділі умови праці відповідно до нормативно-правових актів, а також забезпечити додержання вимог законодавства щодо прав працівників у галузі охорони праці.

Із цією метою роботодавець забезпечує функціонування системи управління охороною праці, а саме:

- створює відповідні служби і призначає посадових осіб, які забезпечують вирішення конкретних питань охорони праці, затверджує інструкції про їхні обов'язки, права та відповідальність за виконання покладених на них функцій, а також контролює їх додержання;
- розробляє за участю сторін колективного договору і реалізує комплексні заходи для досягнення встановлених нормативів та підвищення існуючого рівня охорони праці;
- забезпечує виконання необхідних профілактичних заходів відповідно до обставин, що змінюються;
- впроваджує прогресивні технології, досягнення науки і техніки, засоби механізації та автоматизації виробництва, вимоги ергономіки, позитивний досвід з охорони праці тощо;
- забезпечує належне утримання будівель та споруд, виробничого обладнання та устаткування, моніторинг за їх технічним станом;

					<i>18-149 ДР</i>			
<i>Зм.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дат</i>				
<i>Розроб.</i>		Лучканін.Н.В.			<i>Охорона праці та безпека в надзвичайних ситуаціях</i>	<i>Лист.</i>	<i>Лист</i>	<i>Листів</i>
<i>Перевірів</i>		Окіпний І.Б.					44	
<i>Консул.</i>						<i>ТНТУ, ФМТ гр МЛм-61</i>		
<i>Зав каф.</i>		Покотило.О.С						

- забезпечує усунення причин, що призводять до нещасних випадків,
- професійних захворювань, та здійснення профілактичних заходів, визначених комісіями за підсумками розслідування цих причин;
- організовує проведення аудиту охорони праці, лабораторних досліджень умов праці, оцінку технічного стану виробничого обладнання та устаткування, атестацій робочих місць на відповідність нормативно-правовим актам з охорони праці в порядку і строки, що визначаються законодавством, та за їх підсумками вживає заходів з усунення небезпечних і шкідливих для здоров'я виробничих факторів;
- розробляє і затверджує положення, інструкції, інші акти з охорони праці, що діють у межах підприємства та встановлюють правила виконання робіт і поведінки працівників на території підприємства, у виробничих приміщеннях, на будівельних майданчиках, робочих місцях відповідно до нормативно-правових актів з охорони праці, забезпечує безоплатно працівників нормативно-правовими актами підприємства з охорони праці;
- здійснює контроль за додержанням працівником технологічних процесів, правил поведінки з машинами, механізмами, устаткуванням та іншими засобами виробництва, використанням засобів колективного та індивідуального захисту, виконанням робіт відповідно до вимог з охорони праці;
- організовує пропаганду безпечних методів праці та співробітництво з працівниками у галузі охорони праці.

Роботодавець несе безпосередню відповідальність за порушення нормативно-правових актів з охорони праці. Служба охорони праці створюється роботодавцем на підприємстві з кількістю працівників 50 і більше. На підприємстві з кількістю працівників менше 50 осіб функції цієї служби можуть виконувати у порядку сумісництва особи, що пройшли перевірку знань з охорони праці відповідними державними службами. Якщо кількість працівників менше 20 осіб, для виконання функцій служби охорони праці можуть залучатися сторонні спеціалісти на договірних засадах. Служба охорони праці підпорядковується

					<i>Охорона праці та безпека в надзвичайних ситуаціях</i>	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		45

безпосередньо роботодавцю і прирівнюється до керівників і спеціалістів основних виробничо-технічних служб.

Спеціалісти служби охорони праці у разі виявлення порушень охорони праці мають право:

- видавати керівникам структурних підрозділів підприємства обов'язкові для виконання приписи щодо усунення наявних недоліків, одержувати від них необхідні відомості, документацію і пояснення з питань охорони праці;

- вимагати відсторонення від роботи осіб, які не пройшли передбачених законодавством медичного огляду, навчання, інструктажу, перевірки знань і не мають допуску до відповідних робіт або не виконують вимог нормативно-правових актів з охорони праці;

- зупиняти роботу виробництва, дільниці, машин, механізмів, устаткування та інших засобів виробництва у разі порушень, які створюють загрозу життю або здоров'ю працівників;

- надсилати роботодавцю подання про притягнення до відповідальності працівників, які порушують вимоги щодо охорони праці.

Припис спеціаліста з охорони праці може скасувати лише роботодавець.

Ліквідація служби охорони праці допускається тільки у разі ліквідації підприємства чи припинення використання найманої праці фізичною особою.

Законодавство про охорону праці передбачає і обов'язки працівників.

Зокрема вони зобов'язані:

- дбати про особисту безпеку і здоров'я, а також про безпеку і здоров'я оточуючих людей у процесі виконання будь-яких робіт під час перебування на території підприємства;

- знати і виконувати вимоги нормативно-правових актів з охорони праці, правила поведінки з машинами, механізмами, устаткуванням та іншими засобами виробництва, користуватися засобами колективного та індивідуального захисту;

- проходити у встановленому законодавством порядку попередні та періодичні медичні огляди.

					Охорона праці та безпека в надзвичайних ситуаціях	Арк.
						46
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		

Працівник несе безпосередню відповідальність за порушення зазначених вимог.

Відповідно до Закону України "Про охорону праці" [60] Кодексом законів про працю України створення безпечних і здорових умов праці на виробництві покладено на роботодавця, який не має права вимагати від працівника виконання роботи в умовах, що не відповідають вимогам нормативно-правових актів з охорони праці [61].

Фінансування охорони праці здійснюється роботодавцем. Крім того, фінансування профілактичних заходів поліпшення стану безпеки, гігієни праці передбачається також у державному і місцевих бюджетах, що виділяється окремим рядком.

Регулювання взаємовідносин між роботодавцем і працівником з питань охорони праці здійснюється колективним договором (угодою).

У колективному договорі, угоді сторони передбачають забезпечення працівникам соціальних гарантій у галузі охорони праці на рівні, не нижчому за передбачений законодавством, їх обов'язки, а також комплексні заходи щодо досягнення встановлених нормативів безпеки, гігієни праці та виробничого середовища, підвищення існуючого рівня охорони праці, запобігання випадкам виробничого травматизму, професійного захворювання, аваріям і пожежам, визначають обсяги та джерела фінансування зазначених заходів.

Роботодавець зобов'язаний за свої кошти забезпечити фінансування та організувати проведення попереднього (під час прийняття на роботу) і періодичних (протягом трудової діяльності) медичних оглядів працівників, зайнятих на важких роботах, роботах зі шкідливими чи небезпечними умовами праці або таких, де є потреба у професійному доборі, щорічного обов'язкового медичного огляду осіб віком до 21 року. За результатами періодичних медичних оглядів у разі потреби роботодавець має забезпечити проведення відповідних оздоровчих заходів. Медичні огляди проводяться відповідними закладами охорони здоров'я, працівники яких несуть відповідальність згідно із

					Охорона праці та безпека в надзвичайних ситуаціях	Арк.
						47
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		



законодавством за відповідність медичного висновку фактичному стану здоров'я працівника. Порядок проведення медичних оглядів визначається спеціально уповноваженим центральним органом виконавчої влади в галузі охорони здоров'я.

Роботодавець має право в установленому законом порядку притягти працівника, який ухиляється від проходження обов'язкового медичного огляду, до дисциплінарної відповідальності, а також зобов'язаний відсторонити його від роботи без збереження заробітної плати.

Роботодавець зобов'язаний забезпечити за свій рахунок позачерговий медичний огляд працівників:

- за заявою працівника, якщо він вважає, що погіршення стану його здоров'я пов'язане з умовами праці;
- за своєю ініціативою, якщо стан здоров'я працівника не дає йому змогу виконувати свої трудові обов'язки.

За час проходження медичного огляду за працівниками зберігаються місце роботи (посада) і середній заробіток.

Навчання й інструктаж працівників з охорони праці є складовою частиною системи управління охороною праці і проводиться з усіма працівниками в процесі їхньої трудової діяльності. Контроль і відповідальність за організацію навчання і періодичність перевірок знань з охорони праці покладено на керівників підприємства, де ці працівники працюють.

Інструктаж працівників залежно від характеру та часу його проведення буває вступний (при прийомі на роботу); первинний (на робочому місці з усіма працівниками: на роботах із підвищеною небезпекою - один раз на квартал, на інших роботах — один раз на півроку; проводиться або індивідуально, або з групою працівників, що виконують однотипні роботи, за програмою первинного інструктажу); позаплановий (при зміні правил з охорони праці, заміні устаткування чи за інших змін факторів, що впливають на безпеку праці); цільовий (при виконанні разових робіт, не пов'язаних із прямими обов'язками за фахом).

					<i>Охорона праці та безпека в надзвичайних ситуаціях</i>	Арк.
						48
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		

Первинний, повторний, позаплановий і цільовий інструктажі проводить безпосередньо керівник робіт. Інструктажі завершуються перевіркою знань шляхом усного опитування або за допомогою технічних засобів навчання, а також перевіркою навичок небезпечних методів роботи. Знання перевіряє працівник, який проводить інструктаж.

Посадові особи (згідно з Переліком функцій посадових осіб, які обов'язково мають проходити попередню і періодичну перевірки знань з охорони праці, затвердженим наказом Державного комітету України з догляду за охороною праці від 11 жовтня 1993 року № 94) [62] до початку виконання своїх обов'язків і періодично один раз на три роки проходять навчання з охорони праці, технологічної безпеки і надзвичайних ситуацій на виробництві. Допускати до роботи осіб, які не пройшли навчання, інструктаж і перевірку знань з охорони праці, заборонено. У випадку незадовільних знань з охорони праці працівник протягом одного місяця має пройти повторне навчання.

За порушення законодавства з охорони праці, невиконання розпоряджень посадових осіб органів державного нагляду за охороною праці юридичні та фізичні особи, які відповідно до законодавства використовують найману працю, притягаються органами державного нагляду за охороною праці до сплати штрафу в порядку, встановленому законом. Максимальний розмір штрафу не може перевищувати п'яти відсотків місячного фонду заробітної плати юридичної чи фізичної особи, яка відповідно до законодавства використовує найману працю. Несплата юридичними чи фізичними особами, які відповідно до законодавства використовують найману працю, штрафу тягне за собою нарахування на суму штрафу пені у розмірі двох відсотків за кожний день прострочення. Застосування штрафних санкцій до посадових осіб і працівників за порушення законів та інших нормативно-правових актів з охорони праці здійснюється відповідно до Кодексу України про адміністративні правопорушення. Особи, на яких накладено штраф, вносять його в касу підприємства за місцем роботи. Рішення про стягнення штрафу може бути оскаржено в місячний строк у судовому порядку.

					<i>Охорона праці та безпека в надзвичайних ситуаціях</i>	Арк.
						49
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		

Кошти від застосування штрафних санкцій до юридичних чи фізичних осіб, які відповідно до законодавства використовують найману працю, посадових осіб і працівників, визначених цією статтею, зараховуються до Державного бюджету України.

## 5.2. Актуальність проблеми електробезпеки.

Сучасне виробництво нерозривно пов'язане з використанням електроенергії. В умовах експлуатації потужних енергосистем, електричних машин та апаратів, розвитку обчислювальної техніки і приладобудування, роботизації та комп'ютеризації виробництва важливого значення набуває проблема в електробезпеці — захисті електротехнічного персоналу та інших осіб, які обслуговують електроустаткування від ураження електричним струмом.

Аналіз загальної кількості виробничих нещасних випадків свідчить, що кількість електротравм становить 1,0-1,5%, а в енергетиці навіть 3-5%. Але серед нещасних випадків зі смертельним наслідком електротравми становлять 20-40% на виробництві, а в енергетиці до 60%, займаючи одне з перших місць. При цьому 60-85% смертельних уражень електричним струмом відбувається в електроустановках напругою до 1000 В (127-380 В).

Електробезпека - це система організаційних та технічних заходів і засобів, які забезпечують захист людей від шкідливого та небезпечного електричного струму, електричної дуги, електромагнітного поля та статичної електрики [63].

Електротравматизм порівняно з іншими видами травматизму має деякі відмінні особливості.

Перша особливість полягає у тому, що організм людини не має органів, за допомогою яких можна дистанційно визначити наявність напруги, як, наприклад, теплову, світлову енергію, деталі, які рухаються. Тому захисна реакція організму виявляється тільки після потрапляння під напругу.

Друга особливість електротравматизму полягає в тому, що струм, який

					Охорона праці та безпека в надзвичайних ситуаціях	Арк.
						50
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		

проходить крізь людину, діє не тільки в місцях контактів та на шляху протікання крізь організм, а й викликає рефлекторну взаємодію, спричиняючи порушення нормальної діяльності окремих органів (серцево-судинної системи, системи дихання).

Третьою особливістю є можливість отримання електротравми, не маючи безпосереднього контакту зі струмопровідними частинами - переміщення по землі поблизу пошкодженої установки (у випадку замикання на землю), ураження через електричну дугу.

Четверта особливість електротравматизму — це те, що у більшості випадків для розслідування, обліку та аналізу доступні тільки електротравми з тяжкими та смертельними наслідками.

Безпека людини на виробництві залежить від багатьох факторів і, зокрема, від рівня електробезпеки. Грамотне вирішення проблеми електробезпеки має забезпечувати людині використання електричної енергії в будь-яких умовах без ризику для життя.

### **5.3. Організація цивільного захисту хімічно небезпечного об'єкта.**

**Цивільний захист (далі – ЦЗ)** – функція держави, спрямована на захист населення, територій, навколишнього природного середовища та майна від надзвичайних ситуацій шляхом запобігання таким ситуаціям, ліквідації їх наслідків і надання допомоги постраждалим у мирний час та в особливий період [1].

**Хімічно небезпечний об'єкт (ХНО)** — промисловий об'єкт (підприємство) або його структурні підрозділи, на якому знаходяться в обігу (виробляються, переробляються, перевозяться (пересуваються), завантажуються або розвантажуються, виконуються у виробництві, розміщуються або складуються (постійно або тимчасово), знищуються тощо) одне або декілька НХР (до ХНО не належать залізниці) [2].

					Охорона праці та безпека в надзвичайних ситуаціях	Арк.
						51
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		

Об'єкти харчової, зокрема молочної, промисловості баз - великі споживачі аміаку, використовуваного в якості холодоагенту. Аміак вогнебезпечний, створює вибухові суміші з повітрям, отруйний, особливо небезпечний для очей.

Заходи хімічного захисту мають включатися окремими розділами до програм, які передбачають виконання заходів цивільного захисту населення і територій від надзвичайних ситуацій техногенного характеру, пов'язаних з можливим викидом у довкілля радіоактивних та небезпечних хімічних речовин [3].

У разі накладення зон можливого забруднення від різних видів хімічного забруднення, в яких може опинитися об'єкт, на такому об'єкті і в аварійно-рятувальних формуваннях, які залучатимуться для виконання аварійно-рятувальних робіт у цих зонах, мають використовуватись індивідуальні або уніфіковані (багатофункціональні) засоби захисту, прилади хімічної розвідки та дозиметричного контролю [3].

Для населення і сил цивільного захисту, призначених для виконання робіт у зонах можливого хімічного забруднення місцевості в разі аварій, відповідні органи влади, суб'єкти господарювання та керівники сил цивільного захисту повинні розробляти типові режими хімічного захисту.

Керівники об'єктів, де здійснюється практична діяльність, пов'язана з хімічно небезпечними об'єктами у разі надзвичайних ситуацій техногенного характеру з метою зниження шкідливого впливу НХР повинні передбачати місця (об'єкти) та планувати заходи з проведення спеціальної обробки одягу, обладнання, майна і транспортних засобів, а також санітарної обробки людей.

На всіх небезпечних об'єктах, які виробляють, використовують, транспортують, переробляють або зберігають НХР, мають:

1) розроблятися відповідні посадові інструкції (обов'язки) і визначатися критерії, методи та методики із забезпечення спостережень щодо оцінки хімічної обстановки;

2) здійснюватися практичні заходи з хімічного спостереження.

					<i>Охорона праці та безпека в надзвичайних ситуаціях</i>	Арк. 52
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		

Існують такі індивідуальні засоби захисту [4]:

- 1) ізолюючий протигаз;
- 2) фільтруючий протигаз марки КД;
- 3) респіратор РПГ – 67 – КД;
- 4) захистний одяг (гумові чоботи, рукавички).

Ліквідація наслідків ХНА включає комплекс заходів, що проводяться в самі короткі терміни в цілях надання допомоги постраждалому населенню, відвертання подальших втрат, а також відновлення життєдіяльності населених пунктів і функціонування суб'єктів господарювання [2].

Вони включають:

- 1) прогнозування можливих наслідків ХНА;
- 2) виявлення і оцінку наслідків аварії;
- 3) здійснення рятувальних і інших невідкладних робіт (СіДНР);
- 4) ліквідацію хімічного зараження;
- 5) проведення спеціальної обробки техніки і санітарної обробки людей;
- 6) надання медичної допомоги ураженим людям.

Висновки: Заходи хімічного захисту мають включатися окремими розділами до програм, які передбачають виконання заходів цивільного захисту населення і територій від надзвичайних ситуацій, пов'язаних з можливим викидом у довкілля небезпечних хімічних речовин. Керівники об'єктів, де здійснюється практична діяльність, пов'язана з хімічно небезпечними об'єктами у разі надзвичайних ситуацій повинні передбачати місця (об'єкти) та планувати заходи з проведення спеціальної обробки. Для виконання аварійно-рятувальних робіт у небезпечних зонах, мають використовуватись індивідуальні або уніфіковані (багатофункціональні) засоби захисту, прилади хімічної розвідки та дозиметричного контролю.

Для вдосконалення цивільного захисту необхідно удосконалити нормативно-правову базу першу чергу, а також з ЦЗ необхідно запрошувати на роботу фахівців, що добре обізнані в ЦЗ з хімічно-небезпечними речовинами.

					<i>Охорона праці та безпека в надзвичайних ситуаціях</i>	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		53

РОЗДІЛ 6  
ЕКОЛОГІЯ

**6.1. Екологічні вимоги до харчових продуктів**

Доведено, що доцільним й ефективним є контроль якості харчової продукції не на кінцевому етапі її виробництва або ще гірше – на етапі реалізації, а поетапний контроль у так званих критичних точках – етапах технологічного процесу, на якому можливе проведення контролю, і який має суттєве значення для запобігання або усунення ризику, що загрожує безпеці харчового продукту, або для його зменшення до прийнятного рівня [2]. Такий новий підхід до виробництва безпечних продуктів харчування відображений в основних принципах системи НАССР (Hazard Analysis and Critical Control Points). НАССР (Система аналізу ризиків та контролю (регулювання) у критичних точках) - система для ідентифікації, оцінки, аналізу та контролю ризиків, що є важливими для безпечності харчових продуктів [3]. Використання нового підходу до контролю якості і безпечності харчових продуктів дозволить виявити загрозу на ранньому етапі та запобігти виробництву небезпечного продукту та, відповідно, потраплянню його до споживача [2]. Згідно вимог Закону України «Про основні принципи та вимоги до безпечності та якості харчових продуктів» [1] оператор ринку зобов'язаний розробляти, вводити в дію та застосовувати постійно діючі процедури, що засновані на принципах системи аналізу небезпечних факторів та контролю у критичних точках, а також забезпечувати належну підготовку з питань застосування постійно діючих процедур, що базуються на принципах системи аналізу небезпечних факторів та контролю у критичних точках, осіб, які є

					<b>18-149 ДР</b>			
<i>Зм.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дат</i>				
<i>Розроб.</i>	Лучканін Н.В.				<i>Екологія</i>	<i>Лит.</i>	<i>Лист</i>	<i>Листів</i>
<i>Перевірив</i>	Зварич Н.М.						54	
<i>Консул.</i>						<i>ТНТУ, ФМТ зр МЛ-61</i>		
<i>Зав каф.</i>	Покотило.О.С							





довкілля.

Для визначення показників безпеки молока, що закуповується, використовуються стандартні методики та методи.

Токсичні елементи: свинець – згідно з ГОСТ 26932; кадмій – згідно з ГОСТ 26933; миш'як – згідно з ГОСТ 26930; ртуть – згідно з ГОСТ 26927; мідь – згідно з ГОСТ 26931; цинк – згідно з ГОСТ 26934 -

Методи визначення свинцю заснований на сухий мінералізації (озоленні) проби з використанням як допоміжний засіб азотної кислоти і кількісному визначенні свинцю та полярографуванні в режимі змінного струму [5].

Ідентичний метод використовують для камдію, міді та цинку.

Метод визначення миш'яку заснований на вимірюванні інтенсивності забарвлення розчину комплексної сполуки миш'яку з діетилдитіокарбамату срібла в хлороформі [7].

Метод визначення ртуті заснований на деструкції аналізованої проби сумішшю азотної та сірчаної кислот, осадженні ртуті йодидом міді і подальшому колориметрическом визначенні у вигляді тетраїодомеркуроата міді - шляхом порівняння зі стандартною шкалою [8].

. Хлорорганічні пестициди контролюють згідно з ГОСТ 23452. Цей встановлює методи визначення вмісту хлорорганічних пестицидів (альфа-, бета- і гамма-ізомерів гексахлорциклогексану (ГХЦГ), 4,4-ДДТ (ДДТ), 4,4-діхлордіфенілдіхлоретілена (ДДЕ), 4,4-діхлордіфенілдіхлоретана (ДДД):

- методом хроматографії в тонкому шарі в діапазоні вимірювань масової концентрації хлорорганічних пестицидів 0,05-5,0 мг / кг;

- методом газорідної хроматографії з використанням газового хроматографа з електронозахватним детектором в діапазоні вимірювань масової концентрації хлорорганічних пестицидів 0,005-0,5 мг / кг [9].

Радіонукліди (стронцій-90, цезій-137) визначають за їх питомою активністю. Дослідження проводяться спектрометричним методом на приладі

					Екологія	Арк.
						56
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		

УСК «Гамма-Плюс» (програмне забезпечення ПРОГРЕСС-2000) та МКС 01А  
«МУЛЬТИРАД» (програмне забезпечення ПРОГРЕСС-5) [10].

					Екологія	Арк. 57
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		

## Бібліографічний опис

1. Биохимия молока и молочных продуктов / к. К. Горбатова, п. И. Гунькова - Санкт-Петербург: ГИОРД, 2010 – 36 с.
2. Производство и использование белков молочной сыворотки / В.В. Молочников, П.Г. Нестеренко, В.Н. Задорожная, А. В. Серов, Обзорная информация. – ЦНИИТЭИмясопром, 1983. – 47 с.
3. Продукты энтерального питания на молочной основе / Г. Ю. Сажинов В.Г. Высоцкий, В.И. Круглик и др.: Обзорная информация. М.: АгроНИИТЭИММП, 1989. – 28 с.
4. Характеристика молочной сыворотки и использование ее составных частей в продуктах питания: методические указания к изучению дисциплины «технология молока и молочных продуктов / А.Г. Храмцов, С.В. Василисин, С. А, Рябцева, П. Г. Нестеренко. – Ставрополь: СГТУ, 1999. – 41 с.
5. Біохімія молока і молочних продуктів / Курс лекцій для здобувачів вищої освіти ступеня «магістр» спеціальності 204 «ТВППТ» денної форми навчання /О. С. Крамаренко – МИКОЛАЇВ: 2017. – 20 с.
6. ГОСТ 3626-73. Молоко и молочные продукты. Методы определения влаги исухого вещества. – Введ. 01.07.74. – М.: Изд-во стандартов, 1989. – С. 218 – 219. Группа Н 19.
7. ГОСТ 23327-98. Молоко и молочные продукты. Метод измерения массовой доли общего азота по Кьельдалю и определение массовой доли белка. – Введ. 01.01.2000. Группа Н 19.
8. ГОСТ 25179-90. Молоко. Методы определения белка. – Введ. 01.01.91. – М. : ИПК Изд-во стандартов. 1996. – С. 273 – 280. Группа Н 19.
9. ГОСТ 5867-90. Молоко и молочные продукты. Методы определения жира. – Введ. 01.07,93. – М. : ИПК Изд-во стандартов, 1998. – С. 254 – 261. Группа Н 19.

					Бібліографічний опис	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		58

10. ДСТУ 6066:2008. Молоко та молочні продукти. Методики визначення температури і маси нетто. – Надано чинності 31.12.2008. –Київ : Держспоживстандарт України, 2008. – 7 с.

11. ДСТУ 6082:2009. Молоко та молочні продукти. Методи визначення густини. – Надано чинності 20.01.2009. – Київ : Держспоживстандарт України, 2009. – 15 с.

12. ГОСТ 3624-92. Молоко и молочные продукты. Титриметрические методы определения кислотности. – Введ. 01.01.94. – М. : ИПК Изд-во стандартов, 1996. – С. 35 – 45. Группа Н 19.

13. ГОСТ 26781-85 Молоко. Метод измерения рН. – Введ. 01.12.86. – М. : ИПК Изд-во стандартов, 1998. – С. 290 – 293. Группа Н 19.

14. ДСТУ ISO 1211:2002 Молоко. Гравіметричний метод визначення вмісту жиру (контрольний метод). – Надано чинності 18.09.2002. – Київ : Держспоживстандарт України, 2004. – С. 41 – 56

15. Залашко М.В. Исследование протеолитической активности молочнокислых бактерий / М.В. Залашко, Н.В. Образцова, Е.И. Савченко // Физиология и биохимия микроорганизмов. – Минск : Наука и техника, 1970. – С. 121 – 128.

16. Крусь Г.И. Методы исследования молока и молочных продуктов / Г.Н. Крусь, А.М. Шалыгина, З.В. Волокитина. Под общ. ред. А.М. Шалыгиной. – М. : Колос, 2000. – 368 с.

17. Ленинджер А. Основы биохимии: Т. 3. Пер. с англ. / А. Ленинджер – М. : Мир, 1985. – 350 с.

18. Охрименко О.В. Лабораторный практикум по химии и физике молока / О.В. Охрименко, К.К. Горбатова, А.В. Охрименко. – СПб.: ГИОРД, 2005. – 256 с.

19. Рудаевская А.Б. Химико-товароведная характеристика гуцульской брынзы и биохимические процессы, протекающие в ней при созревании и хранении: дис. на соискание учен. степени кандидата техн. наук / Анна Богдановна Рудаевская; Львовский торгово-экономический институт. –Львов, 1955. – 144 с.

					<i>Бібліографічний опис</i>	Арк. 59
<i>Змн.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дат</i>		

20. Стандарт ФРН ДІН 10344-82. Молоко и молочные продукты. Метод определения галактозы. – Введ. 01.01.2000. – М. : Стандартиформ, 2009. Группа Н 19.

21. Столяр, О.Б. Біологічна хімія : навч. посібн. / О.Б. Столяр. – Тернопіль : Підручники і посібники, 2014. – 368 с.

22. Тепел А. Химия и физика молока / А. Тепел. – М.: Пищевая промышленность, 1979. – 624 с.

23. Теплы М. Молокосвертывающие ферменты животного и микробного происхождения / М. Теплы, Я. Машек, Я. Гавлова. – М. : Пищевая промышленность, 1980. – 272 с

24. Чагаровський О.П. Хімія молочної сировини : навчальний посібник для студентів вищих навчальних закладів / О.П. Чагаровський, Н.А. Ткаченко, Т.А. Лисогор. – Одеса : «Сімекс-прінт», 2013. – 268 с.

25. Юкало А.В. Протеїни казеїнового комплексу молока корів (*Bos taurus*) як попередники біологічно активних пептидів / А.В. Юкало, Л.А. Сторож, В.Г. Юкало // Біотехнологія. – 2012. –Т. 5, № 4. – С. 21 – 33.

26. Юкало А.В. Біоактивні пептиди протеїнів сироватки молока корів (*Bos Taurus*) / А.В. Юкало, К.Є. Дацишин, В.Г. Юкало // *Biotechnologia Acta*. – 2013. – Т. 6, № 5. – С. 49 – 61.

27. Юкало В.Г. Влияние ренниномурина и некоторых поверхностно активных веществ на вязкость казеиновых растворов : дис. на соискание учен. степени кандидата хим. наук / Владимир Глебович Юкало; ИНЭОС АН СССР. – Москва, 1984.

28. Юкало В.Г. Білки казеїнового комплексу коров'ячого молока та продукти їх протеолізу за дії ферментів молочнокислих бактерій : дис. на здоб. вченого ступеня доктора біол. наук : 03.00.04 / Володимир Глібович Юкало; ІБТ ААНУ. – Львів, 2007. – 359 с.

29. Basch J.J. Quantitation of caseins and whey proteins of processed milks and whey protein concentrates, application of gel electrophoresis, and comparison with

					Бібліографічний опис	Арк. 60
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		



39. Nomenclature of the proteins of cow's milk—sixth revision [Text]/ H.M.Farrell, R.JimenezFlores, G.T.Bleck, E.M.Brown et al. // Journal of Dairy Science -2004. Vol. 87, № 6, Pages 1641-1674.

40. Quantitation of Caseins and Whey Proteins of Processed Milks and Whey Protein Concentrates, Application of Gel Electrophoresis, and Comparison with Harland-Ashworth Procedure [Text]/ Jay J.BaschFrederic W.Douglas et al. // Journal of Dairy Science – 1985. Vol. 68, №1, Pages 23-31.

41. Electrophoretic separation of the milk protein [Text]/A. Yukalo, V. Yukalo, M. Shynkaryk // Proceeding of the International Conference on Bio and Food Electrotechnologies, - 2009. P. 227-231.

42. Вивчення різних форм казеїну у молоці методом диск-електрофорезу [Текст]/В.В. Скалка, О. М. Савчук // Фізика живого. – 210. С. 36-38.

43. Identification of protein fractions of milk cows casein complex A. Lukalo // Ukrainian Biochemical journal. – 2015. – Vol. 87, № 4. P. 87-91.

44. Остерман Л. А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот. Электрофорез и ультрацентрифугирование (Практическое пособие) – М: Наука, 1981. 288 с.

45. Закон України «Про основні принципи та вимоги до безпечності та якості харчових продуктів»/ Верховна Рада України. Закон від 23.12.1997, №771/97-ВР, Остання редакція від 04.04.2018. Внесення змін (закон від 18.05.2017 N 2042-VIII /2042-19// <http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/771/97-%D0%B2%D1%80>

46. Екологічні засади забезпечення якості та безпеки харчових продуктів [Електронний ресурс]/ Толок Г. А., КНУКіМ, 2018 URL: [http://www.economy.nayka.com.ua/pdf/6\\_2018/50.pdf](http://www.economy.nayka.com.ua/pdf/6_2018/50.pdf)

47. В Впровадження системи НАССР на підприємстві – 12 кроків [Електронний ресурс]/ Птахівництво України і світу | менеджмент, аналітика, реформи, стандарти, 2016 URL: <http://market.avianua.com/?p=4183>

					Бібліографічний опис	Арк.
						62
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		

48. Забруднювачі харчових продуктів: види та шкідливість [Електронний ресурс]/ Освіта, 2011 URL: <https://osvita.ua/vnz/reports/ecology/21054/>

49. ГОСТ 26932 Сырье и продукты пищевые. Методы определения свинца (с Изменением N 1) [Чинний від 1986-12-01] МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

50. ГОСТ 26933 Сырье и продукты пищевые. Методы определения кадмия (с Изменением N 1) [Чинний від 1986-12-01] МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

51. ГОСТ 26930 Сырье и продукты пищевые. Метод определения мышьяка (с Изменением N 1) [Чинний від 1987-01-01] МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

52. Сырье и продукты пищевые. Метод определения ртути (с Изменением N 1) [Чинний від 1986-12-01] Межгосударственный стандарт

53. ГОСТ 26934-86 Сырье и продукты пищевые. Метод определения цинка (с Изменением N 1) [Чинний від 1986-12-01] МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

54. Шудренко І. В. Цивільний захист : навч. посіб. / І. В. Шудренко. – Житомир : Житомирський національний агроєкологічний університет, 2014. – 248 с.

55. Про затвердження Методики прогнозування наслідків вилливу (викиду) небезпечних хімічних речовин при аваріях на промислових об'єктах і транспорті, Законодавство країни

56. Про затвердження Правил техногенної безпеки, Законодавство країни

57. Обережно аміак! Пам'ятка населенню! [Електронний ресурс]/ Уманська районна державна адміністрація черкаської області. URL: <https://uman-rda.gov.ua/oberezhno-amiak-pamyatka-naselennju-13-14-19-25-10-2017/>

58. Е.С.Стрежекуров Охороні праці в галузі. Конспект лекцій. Дніпродзержинськ: Дніпродзержинський державний технічний університет. 2013. 48 с.

					Бібліографічний опис	Арк.
						63
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат		



59. Ткачук К. Н., Халімовський М. О., Зацарний В. В. та ін. Основи охорони праці: Підручник. – 2-ге вид., допов. і перероб. – К.: Основа, 2006. – 444 с
60. . Справочная книга по светотехнике / Под ред. Ю.Б.Айзенберга. - 3-е изд., перераб. и доп. - М. : Знак, 2006. - 972 с.
61. Освітлення промислових об'єктів: Навч. посібник / Укл. Говоров П.П., Пилипчук Р.В., Токань А.І. та ін.– Тернопіль: Джура, 2008. – 388 с.
62. Кроль Ц.Е., Мясоедова Е.И., Терешкевич С.Г. Качество промышленного освещения .-М.:Энергоатомиздат,1991 .-224 с.
63. . Оболенцев Ю.Б., Гиндин Э.Л. Электрическое освещение общепромышленных помещений .-М.:Энергоатомиздат,1990 .-112 с.
64. Азалиев В.В., Варсанофьева Г.Д., Кроль Ц.Е. Эксплуатация осветительных установок промышленных предприятий .-М.:Энергоатомиздат, 1984.-160 с.

					<i>Бібліографічний опис</i>	Арк.
						64
<i>Змн.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дат</i>		