



Многопрофильная инженерная олимпиада «Звезда» «Биотехнологии»

11 классы

Заключительный этап

2024-2025

Задания, ответы и критерии оценивания

Проектная задача для 11-го класса (включает в себя 6 частных задач)

Пробиотики – живые микроорганизмы, которые при введении в адекватных количествах оказывают благотворное физиологическое воздействие на организм хозяина. Однако пробиотики чрезвычайно чувствительны к экстремальным условиям окружающей среды, что существенно ограничивает их способность выживать в пище. Инкапсуляция клеток пробиотиков с помощью подходящего материала для стенок помогает сохранить жизнеспособность пробиотиков во время промышленной обработки и при прохождении через желудочно-кишечный тракт. Процесс инкапсуляции пробиотиков основан на создании полимерных систем в форме гидрогелевых матриц и микрокапсул с иммобилизованными микробными клетками. Вам предстоит решить ряд задач, позволяющих получить пробиотический продукт.

Внимание!!! Максимальный балл, указанный в скобках, начисляется только при наличии решения и ответа.

Задача №1. (5 баллов) Выберите вариант с пробиотическими микроорганизмами, которые целесообразно инкапсулировать:

- A) *Bifidobacterium bifidum* и *Listeria monocytogenes*
- Б) *Lactobacillus casei* и *Burkholderia mallei*
- В) *Lactobacillus acidophilus* и *Bifidobacterium bifidum*
- Г) *Proteus vulgaris* и *Lactobacillus acidophilus*

Ответ: В

За верный ответ – 5 баллов. Если указаны 2 ответа, один из которых верный – 1 балл

Задача №2. (30 баллов) При проведении инкапсуляции важным показателем является эффективность инкапсуляции (ЭИ), которая определяется по формуле:

$$\text{ЭИ}(\%) = \frac{N \cdot M}{N_0} \cdot 100$$

где N – количество жизнеспособных клеток, высвобожденных из 1,0 г микрокапсул,

M – общая масса собранных микрокапсул,

N₀ – количество свободных клеток перед капсулированием.

Определите, какой из приведенных материалов (см. Таблицу 1) эффективнее использовать для получения капсул при инкапсуляции бифидобактерий *Bifidobacterium bifidum*. Начальное количество бактерий для инкапсуляции определите по условиям задачи №3. Если вы не справились с задачей №3, примите начальное

количество бактерий как результат подсчета колоний на чашках Петри при посеве восьмого разведения бактериального препарата (см. Рисунок 1). Ответ подтвердите расчетами.

Таблица 1

Материал капсул	Количество жизнеспособных клеток, высвобожденных из микрокапсул, КОЕ/г	Масса микрокапсул, г
хитозан	$1,1 \times 10^9$ КОЕ/г	2,3
сывороточный протеин	$2,2 \times 10^8$ КОЕ/г	2,7
желатин	$0,9 \times 10^9$ КОЕ/г	2,9

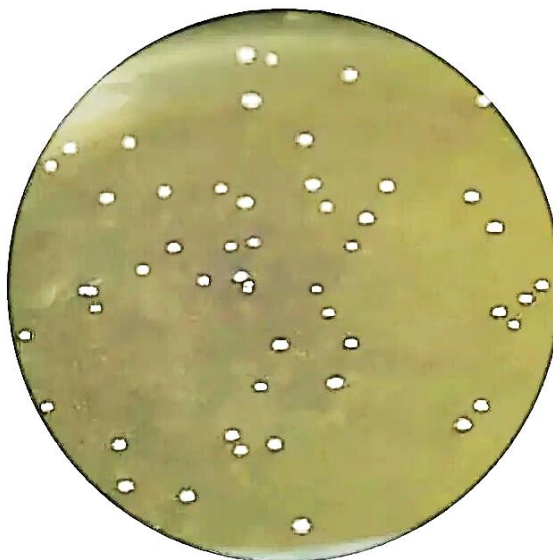


Рисунок 1 – Вид посева на чашку Петри с модифицированной селективной средой, 8-е разведение 1 г бактериального препарата *Bifidobacterium bifidum*

Ответ: желатин

Решение. Посчитаем ЭИ для каждого материала капсул с учетом результатов решения задачи №3:

$$\text{ЭИ(хитозан)} = 100 \times (1,1 \times 10^9) \times 2,3 / 2,99 \times 10^9 = 84,6\%$$

$$\text{ЭИ(сывороточный протеин)} = 100 \times (2,2 \times 10^8) \times 2,7 / 2,99 \times 10^9 = 19,9\%$$

$$\text{ЭИ(желатин)} = 100 \times (0,9 \times 10^9) \times 2,9 / 2,99 \times 10^9 = 87,3\%$$

Посчитаем ЭИ для каждого материала капсул с учетом результатов подсчета колоний на рисунке:

$$\text{ЭИ(хитозан)} = 100 \times (1,1 \times 10^9) \times 2,3 / 50 \times 10^8 = 51\%$$

$$\text{ЭИ(сывороточный протеин)} = 100 \times (2,2 \times 10^8) \times 2,7 / 50 \times 10^8 = 12\%$$

$$\text{ЭИ(желатин)} = 100 \times (0,9 \times 10^9) \times 2,9 / 50 \times 10^8 = 52\%$$

Наибольшее значение эффективности инкапсуляции у капсул из желатина.

Ответ верный и представлено решение – 30 баллов

Решение выстроено логически верно, но допущены ошибки в расчетах – 15 баллов

Ответ верный, не представлено решение – 2 балла

Задача №3. (15 баллов) Для определения эффективности инкапсуляции необходимо знать инокулированное количество бактерий. Для этой цели

воспользуемся методом подсчета микроорганизмов в 1 мл суспензии бактериального препарата под микроскопом с использованием счетной камеры. Счетная камера Горяева представляет собой специальное предметное стекло с нанесенными на него поперечными прорезями (см. Рисунок 2). Средняя площадка разделена на две площадки с выгравированной сеткой с квадратами определенной площади. По обе стороны средней площадки в камере Горяева расположены две других на 0,1 мм выше средней. Плоскости этих площадок служат для притирания покровного стекла. Подсчет клеток проводят под микроскопом, который настраивают таким образом, чтобы была видна нанесенная на камеру сетка и клетки микроорганизма, равномерно распределенные на ней.

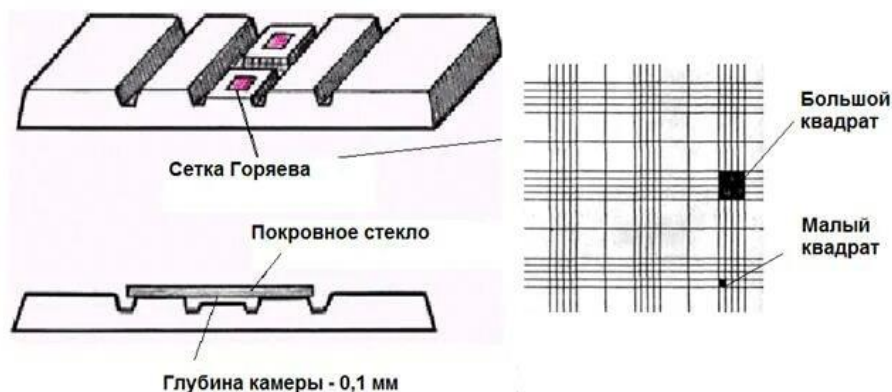


Рисунок 2 – Камера Горяева для подсчета количества микроорганизмов

Считают число клеток в 5 горизонтальных и 15 диагональных больших квадратах, после чего определяют число клеток (x) в 1 мл исследуемой взвеси по формуле:

$$x = \frac{a}{20} \cdot N \cdot k \cdot b = \frac{a \cdot 225 \cdot 1111}{20} \cdot b = a \cdot 12499 \cdot b$$

a – число клеток в 20 квадратах;

$N = 225$ – число больших квадратов в камере Горяева;

$k = 1/v = 1/0,0009 = 1111$ – коэффициент, равный величине, обратной объему камеры Горяева ($v = 0,9 \text{ мм}^3 = 0,9 \cdot 10^{-3} \text{ мл}$);

b – разведение препарата микроорганизма.

Рассчитайте среднее количество микроорганизмов, если при микроскопии 3-го разведения ($1:10^3$) бактериального препарата в камере Горяева выявлено 209 клеток, а при микроскопии 4-го разведения ($1:10^4$) – 27 клеток.

Ответ: $2,99 \cdot 10^9$ КОЕ/г

Решение:

По формуле определим количество клеток в бактериальном препарате:

Для 3-го разведения: $x = 209 \cdot 12499 \cdot 10^3 = 2,61 \cdot 10^9$ КОЕ/г

Для 4-го разведения: $x = 27 \cdot 12499 \cdot 10^4 = 3,37 \cdot 10^9$ КОЕ/г

Найдем среднее значение количества микроорганизмов: $10^9 \cdot (2,61 + 3,37) / 2 = 2,99 \cdot 10^9$ КОЕ/г

Ответ верный и представлено решение – 15 баллов

Решение выстроено логически верно, но ответ неверный – 7 баллов

Ответ верный, не представлено решение – 1 балл

Задача №4. (25 баллов)

Результаты исследований 5 капсул позволили получить данные, представленные в таблице 2. Определите количество капсул, из которых высвобождено $2 \cdot 10^9$ КОЕ/мл жизнеспособных клеток.

Таблица 2

№ капсулы	Диаметр капсулы, мм	КОЕ/капсула (в пересчете на объем капсулы)
1	2,8	$1,4 \cdot 10^5$
2	2,1	$0,9 \cdot 10^5$
3	2,7	$1,3 \cdot 10^5$
4	2,9	$1,4 \cdot 10^5$
5	2,4	$1,2 \cdot 10^5$

Ответ: 58 капсул

Решение:

Найдем средний диаметр капсулы: $(2,8+2,1+2,7+2,9+2,4)/5=2,58$ мм

Найдем средний объем капсулы: $V = \frac{4}{3} \cdot \pi \cdot R^3 = \frac{4}{3} \cdot 3,14 \cdot (1,29)^3 = 4,187 \cdot 2,147 = 8,988$

$\text{мм}^3 = 0,00899$ мл

Найдем среднее количество микроорганизмов в капсуле:

$\text{КОЕ}_{\text{ср}} = (1,4+0,9+1,3+1,4+1,2) \cdot 10^5 / 5 = 3,1 \cdot 10^5$ КОЕ/капсула

Определим количество микроорганизмов в 1 мл содержимого капсул:
 $3,1 \cdot 10^5 / 0,00899 = 344,83 \cdot 10^5 = 3,45 \cdot 10^7$ КОЕ/мл

Найдем количество капсул: $2 \cdot 10^9 / 3,45 \cdot 10^7 = 57,97$ или 58 капсул

Ответ верный и представлено решение – 25 баллов

Решение выстроено логически верно, но ответ неверный – 10 баллов

Ответ верный, не представлено решение – 1 балл

Задача №5. (20 баллов) При хранении продукта некоторое количество капсул разрушается. Согласно техническому регламенту содержание бифидобактерий в обогащенном продукте должно составлять не менее $1 \cdot 10^6$ колониеобразующих единиц (микробных клеток) в 1 г (см^3) продукции, чтобы оказывать пробиотический эффект. В таблице 3 приведены данные об изменении количества инкапсулированных жизнеспособных клеток в процессе хранения продукта. По данным таблицы 3 постройте график и по графику определите, через какой период хранения продукт с инкапсулированными бифидобактериями уже не будет относиться к обогащенному. Период хранения укажите в виде «8–9 сут».

Таблица 3

Наименование показателя	Количество инкапсулированных жизнеспособных клеток в процессе хранения				
	3 сут	6 сут	9 сут	12 сут	15 сут
Кол-во клеток, КОЕ в 1 см^3	$3,1 \cdot 10^8$	$4,9 \cdot 10^7$	$6,2 \cdot 10^6$	$0,8 \cdot 10^6$	$1,1 \cdot 10^5$

Ответ: через 11–12 сут

Решение. Для построения графика переведем количество клеток, КОЕ в 1 см^3 , в количество клеток, $\lg$ КОЕ в 1 см^3 (см. таблицу).

Наименование показателя	Количество инкапсулированных жизнеспособных клеток в процессе хранения				
	3 сут	6 сут	9 сут	12 сут	15 сут

Кол-во клеток, КОЕ/ 1 см ³	$3,1 \cdot 10^8$	$4,9 \cdot 10^7$	$6,2 \cdot 10^6$	$0,8 \cdot 10^6$	$1,1 \cdot 10^5$
Lg КОЕ/ 1 см ³	8,49	7,69	6,79	5,90	5,04

Построим график зависимости количества клеток, Lg КОЕ/ 1 см³ от времени хранения. Предельному значению $1 \cdot 10^6$ колониеобразующих единиц (микробных клеток) в 1 г (см³) продукции соответствует 6Lg КОЕ/ 1 см³. Данному значению на графике соответствует 11,5 сут хранения, или 11–12 сут.

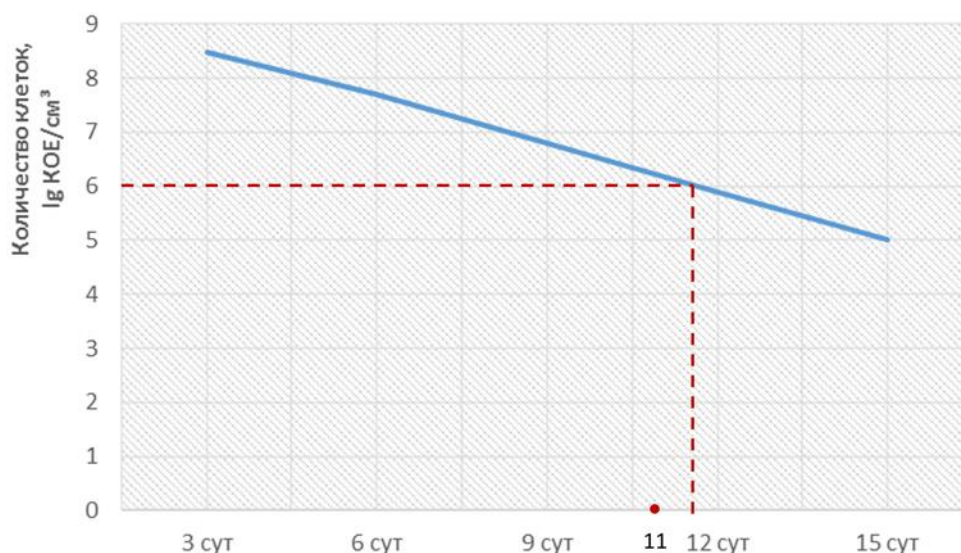


График построен верно, ответ верный – 20 баллов

График построен верно, но ответ представлен неверно – 10 баллов

График не построен, задача логически решена верно – 10 баллов

Ответ верный, не представлено решение – 1 балл

Задача №6. (5 баллов) Подытожим результаты работы и сведем их в единую схему. Расставьте в правильной последовательности процессы, позволяющие получать пробиотический продукт с инкапсулированными бифидобактериями.

- 1 А) стабилизация капсул в растворе хлорида кальция
- 2 Б) фильтрация капсул
- 3 В) приготовление раствора альгината натрия
- 4 Г) введение капсул в состав продукта
- 5 Д) формирование капсул капельным методом
- 6 Е) активизация бактерий в сухом бактериальном препарате
- 7 Ж) введение активизированного бактериального препарата в раствор альгината натрия

Ответ: 1-Е, 2-В, 3-Ж, 4-Д, 5-А, 6-Б, 7-Г или ЕВЖДАБГ

Ответ верный – 5 баллов

Имеются 1-2 ошибки – 2 балла

Имеются 3-4 ошибки – 1 балл