



Многопрофильная инженерная олимпиада «Звезда» «Биотехнологии»

11 классы

Заключительный этап

2024-2025

Задания

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:

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

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

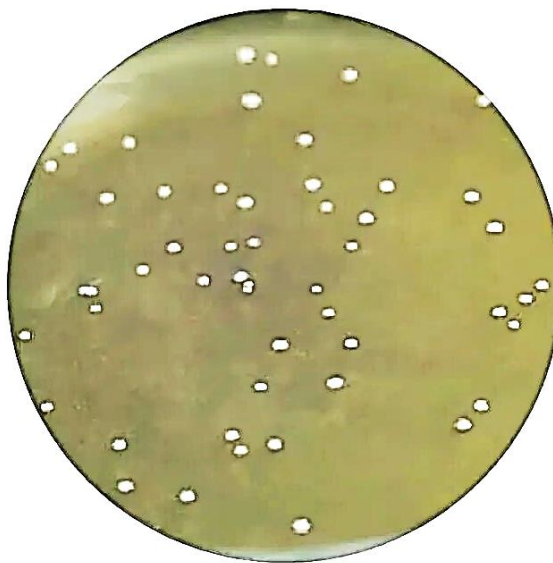


Рисунок 1 – Вид посева на чашку Петри с модифицированной селективной средой, 8-е разведение 1 г бактериального препарата *Bifidobacterium bifidum*

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.

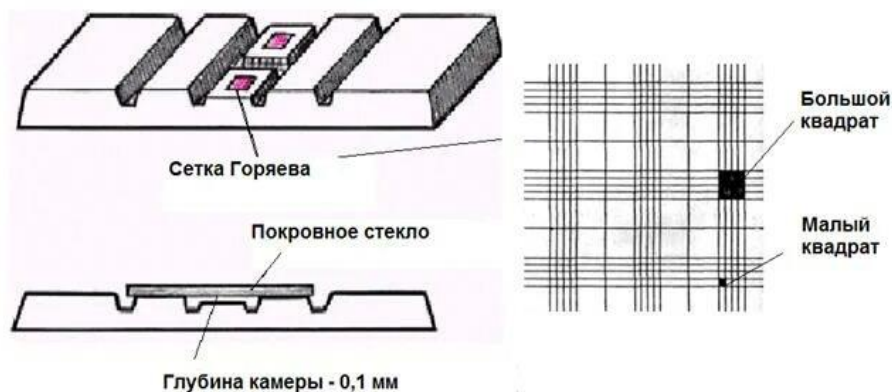


Рисунок 2 – Камера Горяева для подсчета количества микроорганизмов

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.

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	$1,2 \cdot 10^5$

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	$3,1 \cdot 10^8$	$4,9 \cdot 10^7$	$6,2 \cdot 10^6$	$0,8 \cdot 10^6$	$1,1 \cdot 10^5$

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