

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
БІЛОЦЕРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
БІОЛОГО-ТЕХНОЛОГІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Спеціальність 162 – «Біотехнології та біоінженерія»

Допускається до захисту
Зав. кафедри харчових
технологій і технологій
переробки продукції
тваринництва,
доцент Загоруй Л.П.

«___»_____20__року

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА БАКАЛАВРА

**АНАЛІЗ БІОТЕХНОЛОГІЇ ВИРОБНИЦТВА
ГЛУТАМІНОВОЇ КИСЛОТИ**

Виконав: Сидоренко Олександр
Романович

Керівник: Цехмістренко О.С.

Рецензент: _____

Я, Сидоренко О.Р., засвічую, що кваліфікаційну роботу виконано з дотриманням принципів академічної доброчесності.

ЗМІСТ

Завдання на кваліфікаційну роботу здобувачу	3
Анотація	4
Annotation	5
Відгук керівника роботи	6
Рецензія	7
ВСТУП	8
1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	10
1.1 Властивості глутамінової кислоти	10
1.2. Способи отримання глутамінової кислоти	11
1.3. Препарати, що містять глутамінову кислоту	14
1.4. Використання глутамінової кислоти у харчовій промисловості	16
1.5. Глутамінова кислота в організмі людини	17
2. МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИКА ВИКОНАННЯ РОБОТИ	22
3. ВЛАСНІ ДОСЛІДЖЕННЯ	23
3.1. Характеристика цільового продукту	23
3.2. Характеристика біологічного агента <i>Corynebacterium glutamicum</i>	24
3.3. Обґрунтування способу проведення біосинтезу	27
3.3.1. Технологічна схема отримання глутамінової кислоти культурою <i>Corynebacterium glutamicum</i>	27
3.4. Характеристика етапів відділення глутамінової кислоти	32
3.5. Обґрунтування вибору технологічного обладнання для отримання глутамінової кислоти	33
3.6. Контроль якості готового продукту	40
4. ЕКОНОМІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ	43
ВИСНОВКИ ТА ПРОПОЗИЦІЇ	47
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	48

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
БІЛОЦЕРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
БІОЛОГО-ТЕХНОЛОГІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Затверджую

Гарант ОП 162 «Біотехнології та біоінженерія»,
професор Мерзлов С.В.

_____ 20__ р.

ЗАВДАННЯ

на кваліфікаційну роботу здобувачу

Сидоренку Олександрю Романовичу

Тема: **АНАЛІЗ БІОТЕХНОЛОГІЇ ВИРОБНИЦТВА ГЛУТАМІНОВОЇ
КИСЛОТИ**

Затверджено наказом ректора № від _____

Термін здачі здобувачем готової кваліфікаційної роботи в деканат:

до «__» _____ 20__ р.

Перелік питань, що розробляються в роботі. Вихідні дані

Календарний план виконання роботи

Етап виконання	Дата виконання етапу	Відмітка про виконання
Вступ		
Огляд літератури		
Матеріал та методика виконання роботи		
Власні дослідження		
Економічна ефективність		
Оформлення роботи		
Перевірка на плагіат		
Подання на рецензування		
Попередній розгляд на кафедрі		

Керівник кваліфікаційної роботи _____ д-р с.-г. наук Цехмістренко О.С.

Здобувач _____

Сидоренко О.Р.

Дата отримання завдання «__» _____ 20__ р.

АНОТАЦІЯ

**Сидоренко О.Р. АНАЛІЗ БІОТЕХНОЛОГІЇ ВИРОБНИЦТВА
ГЛУТАМІНОВОЇ КИСЛОТИ**

Дипломна робота бакалавра за спеціальністю 162 Біотехнологія та інженерія. – Білоцерківський національний аграрний університет, Біла Церква, 2025 рік.

Дипломну роботу присвячено вивченню *Corynebacterium glutamicum*, їх властивостей та практичного застосування. Обґрунтовано технологію виробництва глютамінової кислоти, отриманої з допомогою *Corynebacterium glutamicum*, розглянуто технологічну схему її виробництва, яка включає стадії ферментації, осадження надлишкових іонів, концентрування, кристалізації, фільтрування і висушування кристалів глютамінової кислоти. Обґрунтовано вибір технологічного обладнання для реалізації виробництва.

Дипломна робота включає методики контролю стадій виробництва глютамінової кислоти.

Апробація. Результати бакалаврської роботи оприлюднено на Всеукраїнській науково-практичній конференції здобувачів вищої освіти «МОЛОДЬ – АГРАРНИЙ НАУЦІ І ВИРОБНИЦТВУ. Новітні технології виробництва та переробки. Продукції тваринництва, харчові технології» (БНАУ, Біла Церква, 25 квітня 2025 року).

Публікації. За темою дипломної роботи опубліковано тези доповіді конференції.

Сидоренко О.Р. Аналіз біотехнології виробництва глютамінової кислоти. МОЛОДЬ – АГРАРНИЙ НАУЦІ І ВИРОБНИЦТВУ. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції здобувачів вищої освіти. Біла Церква: БНАУ, 2025. Сс. 60-62.

Кваліфікаційна робота бакалавра містить 50 сторінок, 13 таблиць, 13 рисунків, список використаних джерел із 40 найменувань, 0 додатків.

Ключові слова: глютамінова кислота, *Corynebacterium glutamicum*, біосинтез, контроль якості.

ANNOTATION

Sydorenko O.R. ANALYSIS OF THE GLUTAMINIC ACID PRODUCTION BIOTECHNOLOGY

Bachelor's thesis in specialty 162 Biotechnology and Engineering. – Bila Tserkva National Agrarian University, Bila Tserkva, 2025.

The thesis is devoted to the study of *Corynebacterium glutamicum*, their properties and practical application. The technology for the production of glutamic acid obtained using *Corynebacterium glutamicum* is substantiated, the technological scheme of its production is considered, which includes the stages of fermentation, precipitation of excess ions, concentration, crystallization, filtration and drying of glutamic acid crystals. The choice of technological equipment for the implementation of production is substantiated.

The thesis includes methods for controlling the stages of glutamic acid production.

Approbation. The results of the bachelor's thesis were published at the All-Ukrainian Scientific and Practical Conference of Higher Education Applicants “YOUNGS FOR AGRICULTURAL SCIENCE AND PRODUCTION” (BTsNAU, Bila Tserkva, April 25, 2025).

Publications. The thesis of the conference report was published on the topic of the thesis.

Sydorenko O.R. Analysis of the biotechnology of glutamic acid production. YOUNGS FOR AGRICULTURAL SCIENCE AND PRODUCTION. Materials of the All-Ukrainian Scientific and Practical Conference of Higher Education Applicants. Bila Tserkva: BNAU, 2025. Pp. 60-62.

The master's qualification work contains 50 pages, 13 tables, 13 drawings, list of used sources from 40 names, 0 annexes.

Key words: glutamic acid, *Corynebacterium glutamicum*, biosynthesis, quality control.

ВІДГУК КЕРІВНИКА

на кваліфікаційну роботу здобувача ___ курсу спеціальності

прізвище, ім'я, по батькові

на тему _____

Оцінка окремих складових кваліфікаційної роботи:

1. **Оформлення роботи** (не більше 10 балів) _____
2. **Своєчасність подання окремих елементів роботи керівнику** (кожний своєчасно поданий елемент дає по 5 балів) _____
3. **Теоретичні та аналітичні аспекти роботи** (не більше 25 балів)

4. **Практичні аспекти роботи** (не більше 20 балів) _____

5. **Оцінка попереднього захисту** (не більше 25 балів) _____

Додаткові думки та загальний висновок керівника _____

Загальна оцінка (не більше 100 балів) _____

Керівник кваліфікаційної роботи

_____ *підпис* _____ *вчене звання, прізвище,*
ініціали

_____ 20__ р.

РЕЦЕНЗІЯ

на кваліфікаційну роботу здобувача ___ курсу спеціальності

прізвище, ім'я, по батькові

Тема: _____

Кваліфікаційну роботу виконано на кафедрі _____

під керівництвом _____

Обсяг роботи _____ с. Робота містить ___ таблиць, ___ рисунка.

Список літератури включає _____ першоджерел.

Тема роботи є _____
актуальною, не актуальною, чітко визначеною, не чітко визначеною

Зміст роботи тему розкриває _____

повністю, не повністю, тему не розкриває

Роботу оформлено _____

відповідно до вимог, з порушенням вимог

Висновки і пропозиції _____

Обґрунтовані/необґрунтовані, відповідають/не відповідають поставленим завданням

Найбільш вагомим результатом роботи є _____

вказати ключові аспекти роботи

Зауваження, побажання: _____

Висновок _____

відповідає/ не відповідає вимогам, заслуговує оцінки відмінно, добре, задовільно

Рецензент _____

підпис, вчене звання прізвище, ім'я, по батькові

_____ 20__ р.

ВСТУП

Актуальність теми. L-амінокислоти є основними біологічними компонентами, застосування яких комерціалізоване у якості харчових та кормових добавок, інфузійних сполук, терапевтичних засобів та попередників синтезу пептидів та інших хімічних речовин. Серед них L-глутамінову кислоту переважно отримують шляхом мікробного бродіння, хімічний синтез застосовується зрідка через утворення рацематів. Високоочищена глутамінова кислота застосовується як сировина для створення широкого асортименту продуктів, у чистому та таблетованому вигляді, входить до складу популярної добавки до їжі – глутамату натрію. Враховуючи сказане, значна увага науковців приділяється інтенсифікації біосинтезу та зростанню обсягів промислового виробництва глутамінової кислоти задля забезпечення попиту.

Генетичні дослідження за синтезу L-глутамінової кислоти зацікавлені на підвищення продуктивності мікробіальних культур, виведення нових штамів за використання мутагенезу, поєднання корисних мутацій для збільшення виходу продукту. Біотехнологічні дослідження у свою чергу спрямовані на удосконалення чинних та розробку нових технологічних режимів на основних стадіях виробництва, сприяючи інтенсифікації відповідних процесів та поліпшенню виходу та якості кінцевого продукту.

Основною природною сировиною для одержання глутамінової кислоти є зелений горошок, сир пармезан, кукурудза, помідори, однак біотехнологічні методи дозволяють одержувати глутамат з бактерій та міцеліальних грибів в тисячі разів більших масштабах.

Щорічно глутамінову кислоту виробляють у кількості від 700 до 1500 тисяч тон, лідерами виробництва є Японія (тут винайшли продукування кислоти ферментацією) та США. У харчовій промисловості вона відома як харчова добавка E620, яку використовують як підсилювач смаку ряду продуктів. Її додають у різні напівфабрикати, продукти швидкого приготування, кулінарні вироби, концентрати бульйонів тощо, адже вона

надає їжі приємний м'ясний смак. Сполуку використовують для збагачення продуктів спортивного харчування з метою збільшення м'язової маси. У хлібопекарській діяльності наявність даної амінокислоти не тільки впливає на смакові та ароматичні властивості хліба, а й на діяльність основних представників бродильної мікрофлори житніх заквасок – дріжджів і молочнокислих бактерій [37; 21; 23].

У ветеринарії глутамінова кислота застосовується в якості кормової добавки у складі комбікормів, оскільки її введення до складу комбікормів скорочує витрату дефіцитних білків тваринного походження.

Найбільш перспективним і широко використовуваним способом виробництва глутамінової кислоти є мікробіологічний синтез.

Глутамінова кислота, отримана за культивування *Corynebacterium glutamicum*, наразі використовується в харчовій промисловості, в медицині для лікування захворювань неврологічного, терапевтичного, психіатричного та хірургічного походження. Широко застосованим у харчовій, фармацевтичній індустрії, в косметології є водорозчинний аніонний біорозкладаний полімер полі(γ -глутамінова) кислота [37].

Великі підприємства, що застосовують глутамат, розташовані в Києві («Київський вітамінний завод», «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод», «Київмедпрепарат»), Харкові («Червона Зірка»), Львові («Галичфарм»), Одесі («Біостимулятор»), Дніпрі («Дніпрофарм») тощо [21].

Отже, актуальність теми кваліфікаційної роботи обумовлена широкою практикою застосуванням глутамінової кислоти, що, враховуючи комерційну цінність, є актуальними для різних галузей промисловості України.

Метою роботи було розглянути ефективну та економічну вигідну технологію виробництва глутамінової кислоти для забезпечення сировиною вітчизняних виробників, яка використовує як продуцент штам *Corynebacterium glutamicum* H1800/15, отриманий шляхом індукованого мутагенезу.

1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Властивості глутамінової кислоти

Глутамінова кислота (Glutamic acid, α -аміноглутарова кислота, Glu) є алифатичною α -амінокислотою, що зустрічається у всіх організмах у вільному (разом з глутаміном в плазмі крові становить близько 1/3 всіх вільних амінокислот) та зв'язаному стані у складі білків. Вперше виявлена у глютені пшениці, що і обумовило її назву. *In vivo* глутамінова кислота синтезується із α -оксоглутарової кислоти, проміжного продукту циклу трикарбонових кислот [37].

Природними джерелами сполуки є соя, м'ясо, птиця, риба, яйця, молочні продукти (особливо сир), зелений горошок, буряк, кукурудза, морква, цибуля, шпинат тощо.

Загальні властивості глутамінової кислоти

Глутамінова кислота ($C_5H_9NO_4$) та її солі (глутамати натрію, калію, амонію, магнію; диглутамат кальцію) використовують як підсилювачі смаку в багатьох харчових концентратах і консервах [21].

Сполуці притаманні наступні фізико-хімічні властивості: молярна маса 147,13 г/моль; зовнішній вигляд – біла кристалічна пудра або кристали; густина – 1,4601 г/л (20 °C); розчинна у воді, температура плавлення –199 °C. Алифатична α -амінокислота, за нагрівання утворює 2-пірролідон-5карбонову, або піроглутамінову кислоту, з Cu і Zn – нерозчинні солі. Пептидні зв'язки утворює α -карбоксільна група, в окремих випадках, як у природного трипептида глутатіона – γ -аміногрупа. У синтезі пептидів з L-ізомерів поряд з α -NH₂-групою захищають γ -карбоксільну групу, для чого її етерифікують бензиловим спиртом або отримують третбутиловий ефір дією ізобутілену в присутності кислот. γ -групу -COOH залишків глутамінової кислоти в білках модифікують за схемою, як у аспарагінової кислоти [40].

Глутамінова кислота наявна у складі міозину, казеїну, β -лактоглобуліну тощо. Найбільше її міститься у білках мозку, злаках, а синтезують при

сольволізі білкових з'єднань. Міозин, казеїн, α -лактоглобулін містить до 20% глутамінової кислоти.

1.2. Способи отримання глутамінової кислоти

Відомо [29; 36; 13; 12] кілька способів отримання глутамінової кислоти: гідроліз білків, синтез хімічний, синтез ферментативний з α -кетоглутарової кислоти і синтез мікробіологічний.

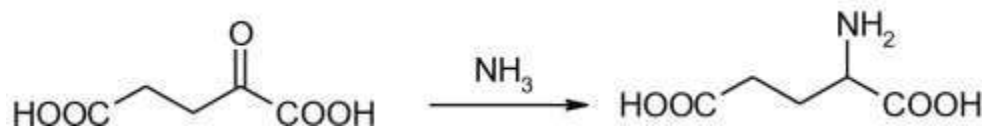
Мікробіологічний синтез є найперспективніший і використовуваний спосіб виробництва глутамінової кислоти. Промислове значення для її отримання мають бактеріальні культури *Micrococcus*, *Brevibacterium*, *Microbacterium*, *Corynebacterium* – паличкоподібні, грампозитивні, нерухомі бактерії, що не утворюють спор. Специфічною їх особливістю є обов'язкова потреба в біотині або в біотині і тіаміні. Сировиною для отримання кислоти є традиційні вуглеводи (глюкоза, сахароза), вуглеводні природного газу (метан, етан), парафін, ароматичні сполуки (бензиловий спирт, пірокатехін тощо). Для виробництва можуть бути використані газойль, оцтова, аміномасляна, фумарова кислоти, ряд інших продуктів [19; 39].

Реактиви	Продукти	Ферменти
Глутамін + H ₂ O	→ Glu + NH ₃	GLS, GLS2
NAcGlu + H ₂ O	→ Glu + Ацетат	N-ацетил-глутаматсинтаза
α -кетоглутарат + НАДПН + NH ₄ ⁺	→ Glu + НАДП ⁺ + H ₂ O	GLUD1, GLUD2 ^[15]
α -кетоглутарат + α -амінокислота	→ Glu + α -кетокислота	трансамінази
1-піролін-5-карбоксилат + НАД ⁺ + H ₂ O	→ Glu + NADH	ALDH4A1
N-формаміно-L-глутамат + FH ₄	→ Glu + 5-формиміно-FH ₄	FTCD
НААГ	→ Glu + NAA	GCPII

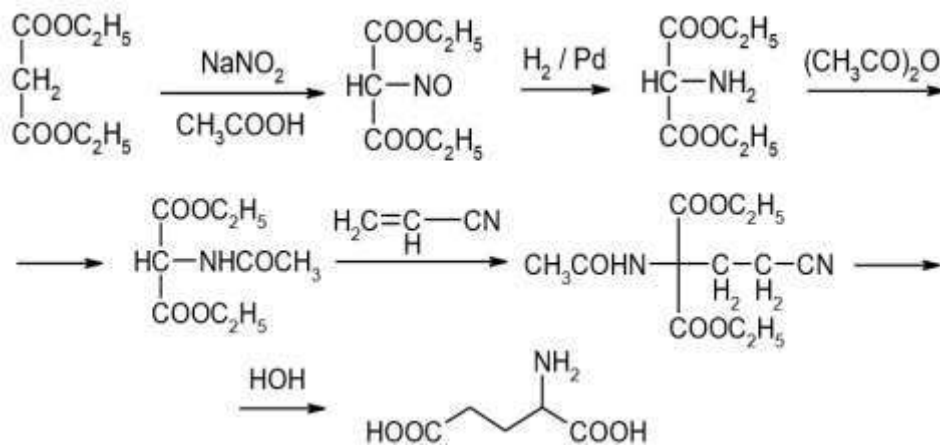
Рис. 1. Біосинтез глутамінової кислоти [28]

Промислове одержання глутамінової кислоти передбачає

мікробіологічний синтез з α -кетоглутарової кислоти за схемою, аналогічною біосинтезу:



Глутамінову кислоту можна отримати з акрилонітрилу й ацетиламіномалонового ефіру:



Отримання глутамінової кислоти **гідролізом** білків передбачає використання тваринних і рослинних білків: казеїну молока, клейковини пшениці, кукурудзяного глютену, відходів м'ясокомбінатів, відходів буряково-цукрових (сепараційний луг), відходів спиртових заводів (барда). Комплексна переробка м'яси дозволяє отримати високоякісні цукрові сиропи, глутамінову кислоту, бетаїн, холін, інші цінні продукти [33].

Гідроліз є малопродуктивним та досить дорогим, адже супроводжується значним утворенням побічних продуктів та необхідністю ретельного очищення синтезованої глутамінової кислоти.

Серед методів **хімічного синтезу** найперспективним є метод з використанням в якості вихідної сировини акрилонітрилу. Згідно методу акрилонітрил в результаті гідроформілювання перетворюють у β -формілпропіонітрил, останній через стадію утворення α -аміноглутардинітрилу переводять у D- і L-глутамінову кислоту. Хімічна реакція синтезу представлена на рисунку 2.

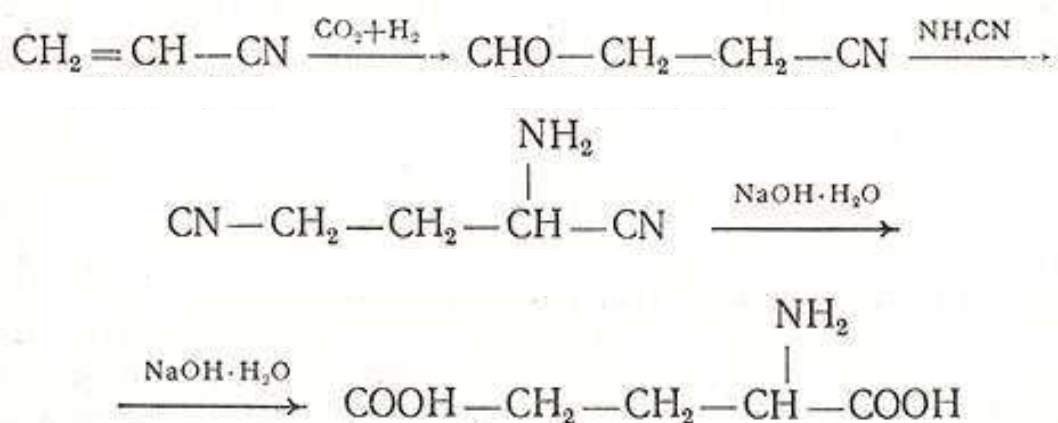


Рис. 2. Хімічна реакція синтезу глутамінової кислоти

Основним недоліком хімічного синтезу є отримання рацематів амінокислот, а розподіл D- і L-ізомерів є досить складною операцією і вимагає великих капітальних витрат [33].

Ферментативний синтез глутамінової кислоти можна здійснити за допомогою ферментів трансамілази або глутаматдегідрогенази з α -кетоглутарової кислоти. Різні стадії перетворень потребують джерела α -кетоглутарової кислоти і відповідної ферментної системи. Перше завдання вирішують за допомогою підбору мікроорганізмів, здатних продукувати значну кількість α -кетоглутарової кислоти з доступних джерел сировини. Продуцентами α -кетоглутарової кислоти можуть виступати *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Kluyverd citrophila*. При культивуванні останнього продуцента можна досягти 57 % виходу α -кетоглутарової кислоти. Дріжджі роду *Candida* за вирощування на парафіні продукують α -кетоглутарову спільно з пірвіноградною кислотою у співвідношенні 6:1 відповідно. Економічний коефіцієнт процесу біосинтезу при цьому досягає 90 % від кількості спожитих вуглеводнів.

Продуцентами трансамідази можуть бути різні мікроорганізми, зокрема *E. coll*; донором аміногруп – аспарагінова кислота або аланін.

Відновлювальне амінування можна здійснювати за допомогою *Pseudomonas* (застосування *Ps. ovalis*, вихід L-глутамінової кислоти становить 60 %) або *Aeromonas*. Окремі штами зазначених мікроорганізмів в

якості субстрату можуть використовувати D-, L- α -оксиглутарову кислоту, вироблену хімічним синтезом [10].

Мікробіологічний синтез глутамінової кислоти є найперспективним і широко використовуваним способом виробництва. Вперше про можливість отримання L-глутамінової кислоти безпосередньо з вуглеводів за допомогою мікроорганізмів методом глибинного культивування повідомили в 1957 р японські вчені Кіноситу, Асаї. Натепер встановлено, що здатність продукувати глутамінову кислоту мають деякі види дріжджів, мікроскопічні гриби, бактерії, однак лише бактерії можуть синтезувати глутамінову кислоту з виходом не менше 40% відносно кількості вихідної сировини.

Наразі промислове значення мають бактерії, що відносять до родів *Micrococcus*, *Brevibacterium*, *Microbacterium*, *Corynebacterium* – переважно грам позитивні, неспороутворюючі, паличкоподібні бактерії.

1.3. Препарати, що містять глутамінову кислоту

Глутамінову кислоту містять лікарські засоби, вітаміни та біологічно-активні добавки (БАДи) [34].

Використання глутамінової кислоти у фармацевтичній промисловості

Лікарські засоби з глутаміновою кислотою на ринку України пройшли процедуру реєстрації та випускаються у формі порошків та таблеток. Засоби можуть призначати у випадках, які включають [20] затримку психічного розвитку у дітей з різною етіологією; ДЦП; лікування наслідків родових внутрішньочерепних травм; синдром Дауна; епілепсію; шизофренію; різного роду психози; депресію і психічне виснаження; безсоння; поліомієліт; наслідки енцефаліту і менінгіту; прогресуючу міопатію; токсичну невропатію; нейротоксичні явища, пов'язані з прийомом інших препаратів.

Препарати з глутаміновою кислотою не застосовують у період вагітності чи лактації, а з огляду на можливий вплив препаратів на нервову

систему, варто обережно застосовувати їх при керування автотранспортом або роботі з іншими механізмами.

Фармакодинаміка. Замінна амінокислота, що бере участь у процесах переамінування амінокислот в організмі, у білковому і вуглеводному обмінах, стимулює окиснювальні процеси, сприяє знешкодженню та виведенню з організму аміаку, підвищує стійкість організму до гіпоксії. Сприяє синтезу ацетилхоліну та АТФ, перенесенню іонів калію, відіграє важливу роль у діяльності скелетних м'язів. Глутамінова кислота є нейромедіаторною амінокислотою, стимулятором передачі збудження у синапсах центральної нервової системи.

Фармакокінетика. Глутамінова кислота добре всмоктується за перорального надходження, швидко елімінується з крові, накопичується переважно у м'язовій і нервовій тканинах, печінці та нирках, проникає через гематоенцефалічний бар'єр і мембрани клітин. Частково глутамінова кислота під час всмоктування переамінується до утворення аланіну. За впливу ферменту глутаматдекарбоксилази перетворюється у мозку на медіатор – гамма-аміномасляну кислоту. Близько 4-7 % її виводиться з сечею у незмінену вигляді, решта – утилізується у процесі метаболічних перетворень.

Протипоказаннями до застосування глутамінової кислоти вважають: гарячкові стани, підвищену збудливість, різко виражені психотичні реакції, печінкову та/або ниркову недостатність, нефротичний синдром, виразкову хворобу шлунка та дванадцятипалої кишки, захворювання органів кровотворення, анемію, лейкопенію.

За застосування глутамінової кислоти показане систематичне дослідження сечі та крові; полоскання роту слабким розчином натрію гідрокарбонату після застосування лікарських засобів.

Препарати, що містять глутамінову кислоту, представлено у вільному продажу через аптечні мережі (зареєстровані препарати) та сайти мережі Інтернет [22].

До препаратів, що містять глютамінову кислоту у складі, відносять:

Глутамінова кислота;

Браун Е 5;

Аміноплазмаль Б; Аміноплазмаль Гепа; Аміноплазмаль Е 15;

Аміноплазмаль Б;

Браун Е 10;

Глутамевит;

Кабівен периферичний; Кабівен центральний;

Квадевит;

Нутрифлекс 40/80;

Нутрифлекс 40/80 ліпід; Нутрифлекс 48/150; Нутрифлекс 48/150 ліпід;

Нутрифлекс 70/180 ліпід; Нутрифлекс 70/240;

Церебролізат;

Елтацин®;

L-Glutamine тощо.

1.4. Використання глютамінової кислоти у харчовій промисловості

Глутамінова кислота, як біологічно-активна харчова добавка, досить часто застосовується у спорті та бодібілдингу завдяки її здатності зв'язувати лактат, що відповідає в організмі людини за почуття м'язового болю. Отже, добавка дозволяє спортсменам швидше відновитися після напружених змагань, а бодібілдерам – після виснажливих тренувань. Заняття спортом значно активують процеси азотистого обміну, внаслідок чого в організмі утворюється більша кількість аміаку, досить токсичного продукту азотистого розпаду. Глутамінова кислота здатна перетворювати його у глютамін, що не несе жодної шкоди здоров'ю. Варто зазначити, що глютамінова кислота здатна за нестачі глюкози в крові замінити її, стаючи, таким чином, «альтернативним» джерелом енергії.

Глутамінова кислота є харчовим підсилювачем смаку Е620 – достатньо популярна добавка, замінник солі. Добавка здатна посилювати смак та

аромат та є дозволеним компонентом у продуктах харчування. Проте спожита кількість Е620 не має перевищувати 120 мг/кг ваги тіла людини.

Глутамінова кислота (Е620) може входити до складу різноманітних кондитерських виробів; бульйонів; продуктів швидкого приготування; сумішей спецій та прянощів.

Харчовий підсилювач смаку Е620 відомий харчовикам як замітник смаку м'яса навіть тоді, коли продукт м'яса не містить. Додаток є обов'язковим інгредієнтом чіпсів [38].

1.5. Глутамінова кислота в організмі людини

Глутамінова кислота є класичною заміною амінокислотою, в плазмі крові її вміст становить близько третини усіх вільних амінокислот.

Обмін глутамінової кислоти займає ключові позиції в метаболізмі білків, вуглеводів, жирів, азоту і ряду інших речовин організму. Оскільки в організмі існує певна «запасна» кількість глутамінової кислоти, тож насамперед, вона витрачається у процесах із безпосередньою потребою [31; 35].

Глутамінова кислота є центральним метаболітом азотистого обміну, її діяльність безпосередньо характеризується високоактивною утилізацією та знешкодженням токсичного вільного аміаку, та перенесенням амінного нітрогену. Аміак становить 80 % всіх азотистих токсинів, утворених в організмі в результаті розпаду амінокислот, амінопурину, аденілових кислот та білків. Механізм його знешкодження полягає в процесі приєднання аміаку до глутамінової кислоти, перетворенні в нетоксичний глутамін, який вже приймає участь в амінокислотному обміні. Глутамін надходить в кров, переноситься нею в печінку, де використовується для утворення сечовини. Значні кількості глутаміну руйнуються глутаміназою нирок до глутамінової кислоти і аміаку, який зв'язується з іонами водню, перетворюючись у іони амонію. Останні виводяться із сечею в обмін на іони натрію, необхідні для підтримки лужного резерву крові. Знешкоджуюча дія глутамінової кислоти є

особливо актуальною при підвищеному вмісті аміаку в крові, тканинах, наприклад, при впливі холоду, перегріві, гіпоксії, гіпероксії, аміачних отруєннях [31; 35].

Здатність глутамінової кислоти зв'язувати аміак і стимулювати обмін речовин в печінці є причиною її широкого використання для лікування хворих з різними формами печінкової недостатності. Водночас отримано позитивні результати за використання її для лікування хвороби Боткіна, печінкової коми, цирозу печінки. Для зв'язування надлишкової кількості аміаку глутамінова кислота застосовується для зниження азотемії у хворих з різними урологічними захворюваннями, при бруцельозі [31; 35].

Антитоксичну дію глутамінової кислоти виявлено при отруєнні метиловим спиртом, сірковуглецем, моно оксидом карбону, семікарбозидом, гідразином, тетрахлорметаном, хлористим марганцем, фторидом натрію тощо.

З допомогою глутамінової кислоти відбувається біосинтез пуринових і піримідинових нуклеотидів, складових компонентів молекул ДНК і РНК. Пуринові і піримідинові нуклеотиди демонструють яскраво виражену анаболічну дію, передусім на кровотворні клітини [9].

Глутамінова кислота здатна стимулювати синтез білків і пептидів, зокрема, глутатіону та казеїну; незамінних амінокислот, передусім, гістидину та аргініну. Гістидин приймає участь в утворенні карнозину і анзерину, безбілкових сполук, що акумулюють нітроген у м'язах та значно підвищують їх працездатність, протидіючи розвитку втоми. Гістидин позитивно впливає на функції печінки, шлунково-кишкового тракту, запобігає утворенню виразок, здатний підвищувати імунітет, послаблювати вплив на організм граничних факторів, налагоджує серцевий ритм. Аргінін спільно з гліцерином приймає участь в синтезі креатину в м'язах, підвищує м'язову працездатність, активізує синтез тестостерону, помітно підвищує статеву активність у чоловіків. Роль глутамінової кислоти у синтезі білка пов'язують з «ефектом зберігання», суть якого полягає у запобіганні використанню

незамінногітрогену для синтезу замічних амінокислот. Глутамінова кислота, легко перетворюючись в замічні амінокислоти, забезпечує достатній набір всіх амінокислот, необхідних для біосинтезу білка. При синтезі аспарагінової кислоти, аланіну, проліну, лізину, орнітину та інших амінокислот використовується не тільки нітроген глутамату, але і його карбоновий скелет [16; 4]. Глутамінова кислота тісно пов'язана з процесами метаболізму вуглеводів.

Багатогранна дія глутамінової кислоти на показники вуглеводного обміну виявляється при гіпоксії. Водночас попереднє введення глутамінової кислоти перешкоджає накопиченню в крові молочної і піровиноградної кислот, зберігає на більш високому рівні вміст глікогену в печінці і м'язах. У зв'язку з цим, глутамінову кислоту доречно застосовувати для послаблення судом, що ускладнюють інсулінову гіпоклікемію при лікуванні шизофренії. Під впливом глутамінової кислоти при гіпоксії спостерігається нормалізація вмісту АТФ в тканинах. Механізм впливу глутамінової кислоти на вуглеводний обмін повністю не з'ясований, проте відомо, що карбоновий скелет глутамінової кислоти через метаболіти енергетичного обміну (α -кетоглутарову, щавлевооцтову та піровиноградну кислоти) легко утворює вуглеводи [6]. Зокрема, глутамінова кислота приймає участь в утворенні глюкози, основного постачальника енергії для головного та спинного мозку. Кислота здатна безпосередньо перетворюватися в глюкозу, головним чином, у кишківнику, та прискорювати утворення глюкози (глюконеогенезу) з інших речовин в печінці та нирках. Біосинтез вуглеводів з глутамінової кислоти є надзвичайно важливим як резервний механізм постачання мозку глюкозою при відсутності харчування вуглеводами або при дуже великих фізичних навантаженнях [5].

Глутамінова кислота приймає активну участь в реакціях ліпідного обміну: її вуглецевий скелет включається до складу жирних кислот, щоправда, у меншій мірі, аніж в лактозу і казеїн. Вважається, що для отримання ацетилкоензиму А та жирних кислот у зворотних реакціях циклу

Кребса використовується 6–35% від усієї кількості глутамінової кислоти, залежно від вмісту глюкози та інсуліну в тканинах. Участь глутамінової кислоти в ліпідному обміні пов'язано з циклом Кребса, як і з транспортуванням нею ліпідів. Участь кислоти в окисненні ліпідів доводиться її здатністю знижувати вміст кетонів в крові [5; 26].

Глутамінова кислота приймає участь в мінеральному обміні, будучи регулятором обміну калію. Вона дещо збільшує проникність клітин для іонів калію, сприяючи їх збереженню всередині, що є важливим фактором життєдіяльності м'язів. Окрім глутамінової кислоти здатність підтримувати вміст калію в тканинах має аспарагінова кислота, проте вважають, що її дія на калієвий обмін проявляється через глутамінову кислоту. Глутамін, на відміну від глутамату, не активує накопичення іонів калію, що змушує припустити, що саме γ -карбоксільна група глутамінової кислоти використовується для переміщення калію в клітину [5; 32].

Глутамат є найпоширенішою амінокислотою у нервовій тканині головного мозку і є одним з основних збуджуючих нейромедіаторів. Він приймає участь у основних інформаційних потоках людини, зокрема у процесах розпізнавання, пам'яті, навчання та запам'ятовування, розумового розвитку. З процесом пов'язаний і глутамат, що відіграє важливу сигнальну роль у сенсорних процесах (зір та слух), у активації рецепторів смаку, а саме рецепторів уамі, які формують смак збагаченої протеїнами їжі [5].

Таким чином, в основному глутамінова кислота слугує для передачі процесів збудження. Однак через те, що вона використовується для отримання ще і гальмівних нейромедіаторів (серотоніну – опосередковано через участь у синтезі триптофану), в більшості випадків вона не чинить високої збудливої дії. За впливу ферменту глутамдекарбоксілази перетворюється у мозку на медіатор – гамма-аміномасляну кислоту, яка є не єдиним, але головним гальмівним нейромедіатором, має виражену анаболічну дію на м'язові тканини, зменшує потребу клітин організму в кисні, активує безкисневе окиснення енергетичних субстратів шляхом

окиснення та вивільнення великої кількості енергії в нервових клітинах, є необхідною в екстремальних ситуаціях (надмірного нервово-психічного перенапруження, фізичного навантаження, високої або низької температури, тяжкої інфекції). Порушення транспорту глутамату є характерною рисою патогенезу майже всіх неврологічних захворювань [15; 30; 11].

Оскільки здатність організму боротися зі стресом, в першу чергу, обмежена енергетичними можливостями нервових клітин, в енергетичному аспекті глутамінова кислота проявляє сильний антистресовий вплив як на центральну нервову систему, так і на весь організм в цілому і є своєрідним адаптогеном [17].

Таким чином, можна зробити **висновок**, що промислове виробництво глутамінової кислоти обумовлене широким спектром галузей її застосування. Клінічними дослідженнями встановлено, що глутамінова кислота приймає активну участь у білково-вуглеводному обміні, стимулює окисно-відновні процеси, сприяє виведенню з організму людини аміаку, підвищує стійкість організму людини до гіпоксії.

Широкий асортимент лікарських засобів та біологічно-активних добавок на основі глутамінової кислоти свідчить про економічну доцільність її промислового виробництва, водночас широкий вжиток таких препаратів робить виробництво економічно вигідним.

Здійснене порівняння способів отримання глутамінової кислоти свідчить про доречність застосування мікробіологічного синтезу у промисловому виробництві.

2. МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИКА ВИКОНАННЯ РОБОТИ

Метою роботи було дослідити ефективну і економічну вигідну технологію виробництва глютамінової кислоти для забезпечення сировиною вітчизняних виробників, яка використовує як продуцент штам *Corynebacterium glutamicum* H1800/15, отриманий шляхом індукованого мутагенезу.

Для досягнення даної мети були поставлені наступні завдання:

- порівняння мікроорганізмів потенційних продуцентів та вибір найбільш перспективного;
- встановлення фізіолого-біохімічних та морфологічних ознак, аналіз методів отримання високопродуктивних промислових штамів продуцента;
- вибір способів виділення та очистки продукту;
- дослідження технологічної та апаратурної схем виробництва продукту;
- обґрунтування вибору ферментера для біосинтезу, його розрахунок та конструкційні особливості.

3. ВЛАСНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

3.1. Характеристика цільового продукту

Цільовий продукт – глутамінова кислота – є замінною аліфатичною амінокислотою із загальною формулою $C_5H_9NO_4$.

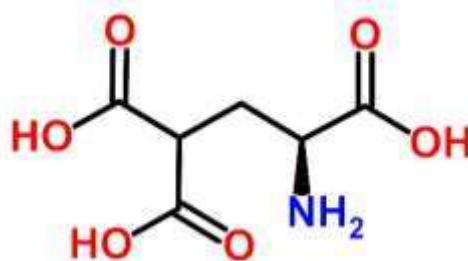


Рис. 3. Просторова будова глутамінової кислоти [28]

За зовнішнім виглядом хімічно чиста речовина є білим кристалічним порошком з молекулярною масою 147,13 г/моль, щільністю 1,538 кг/м³, температурою плавлення – 205°C. Розчинність її у воді становить 7,5 г/л (при 20°C), погано розчиняється у холодній воді [28].

Як лікарський засіб глутамінову кислоту класифікують до групи засобів, що впливають на нервову систему (АТХ-код N07XX).

Глутамінова кислота відіграє важливу роль в підтримці кислотно-лужної рівноваги та присутня в організмі у значній кількості – до 25%, у складі білків, різних хімічних сполук та у незв'язаному, вільному стані. Її вміст у організмі з віком та за наявності патологій може знижуватися, що потребує додаткового її споживання за внесення до раціону продуктів з високим вмістом глутамінової кислоти чи у вигляді харчових добавок [33; 10]. Глутамінова кислота є попередником ГАМК, важливого нейротрансмітера центральної нервової системи, допомагає транспортувати калій та натрій у спинномозкову рідину, сама є збудливим нейротрансмітером.

L-глутамінову кислоту включають у середовище МЕМ для культивування клітинних культур як компонент розчину незамінних амінокислот, водночас сполуку застосовують як джерело нітрогену для культури *Aspergillus fumigatus* NRRL 2436 за виробництва фумагіліну [34].

Синтезована у промислових умовах технічна L-глутамінова кислота за

органолептичними показниками має відповідати певним вимогам (табл. 1) [20].

Таблиця 1

Органолептичні показники L-глутамінової кислоти

Найменування показників	Характеристика
Зовнішній вигляд	Кристалічна маса коричневого кольору
Смак	Кислий специфічний
Запах	Специфічний
Розчинність	Легко розчинна в розбавлених кислотах, лугах і гарячій воді, важко розчинна в холодній воді і концентрованої соляній кислоті, майже нерозчинна в етиловому спирті, ефірі і ацетоні.

Окрім органолептичних показників технічна L-глутамінова кислота має відповідати вимогам за хімічними показниками (табл. 2) [20].

Таблиця 2

Хімічні показники L-глутамінової кислоти

Найменування показників	Норми
Масова частка вологи,%, не більше	22,0
Масова частка L-глутамінової кислоти (у перерахунку на суху речовину),%, не менше	75,0
Масова частка хлоридів (у перерахунку на суху речовину), %, не більше	10,0

3.2. Характеристика біологічного агента *Corynebacterium glutamicum*

Corynebacterium glutamicum є грам позитивними не рухливими бактеріями, мають форму стрижня з кінцями, набряклими у подібній до булави формі, можуть утворювати класичні палички або коки, залежно від умов росту (рис. 4) [22].

Зазвичай *Corynebacterium glutamicum* утворюють метахроматичні гранули (фосфатні включення та гранули волютину). Розмір бактерій становить 2–6 мкм в довжину та 0,5 мкм в діаметрі, клітини об'єднуються в

характерний «V»-подібний спосіб. Джгутиків не мають та не утворюють спор та капсул [38].

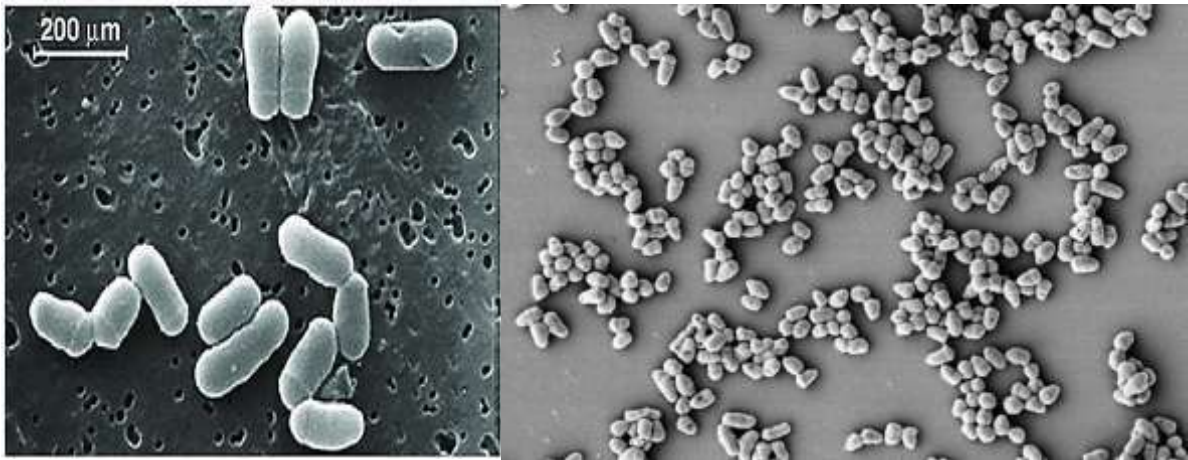


Рис. 4. Зовнішній вигляд та колонії *Corynebacterium glutamicum*

Таксономічний статус *Corynebacterium glutamicum*

Corynebacterium glutamicum є паличкоподібною грам позитивною бактерією, факультативний анаероб, присутня в ґрунтах. Не утворює спори, не патогенна. *C. glutamicum* з рештою *Corynebacteriaceae* і бактеріями родин *Mycobacteriaceae* і *Nocardiaceae* входить до групи CMN – бактерії медичного та ветеринарного значення [38].

Вид вперше був відкритий в Японії та описаний Кіношіта зі співавторами (1958) під назвою *Micrococcus glutamicus*, у подальшому (1967) вид було перенесено до *Corynebacterium*.

Бактерії роду *Corynebacterium* згідно таксономічного статусу класифікують: Тип – *Actinobacteria*; Клас – *Actinobacteria*; Ряд – *Mycobacteriales*; Родина – *Corynebacteriaceae*; Рід – *Corynebacterium*.

Морфолого-культуральні властивості *Corynebacterium glutamicum*

Клітинам *C. glutamicum* притаманна овальна форма. За вирощування колоній на МПА за 3-5 діб за $t = 30^{\circ}\text{C}$ утворюються жовтувато-кремові колонії діаметром 2-4 мм, з гладкою поверхнею, опуклі, з рівним краєм, однорідною тістоподібною структурою.

За вирощування колоній на глюкозо-мінеральному середовищі Гловера

(містить лейцин, біотин, тіамін) за 3-5 діб за $t=30^{\circ}\text{C}$ утворюються світло-кремові колонії розміром 1-2 мм, з рівним краєм, однорідною структурою, тістоподібною консистенцією та гладкою поверхнею. Зростання штриха на вказаному середовищі через дві доби помірне [31].

C. glutamicum є аеробами чи факультативними анаеробами, хемоорганотрофами, використовують карбон із різних джерел, навіть тих, що містять декілька ароматичних кілець. З огляду на відмінності в доступності поживних речовин і джерел карбону, у *C. glutamicum* наявні 127 білків, асоційованих з регуляторною функцією в транскрипції, яка безпосередньо контролює метаболізм. Бактерії виду містять каталазу, використовують ферментативний метаболізм для розщеплення вуглеводів, добре зростають на глюкозі, сахарозі, мальтозі, фруктозі, етанолі, оцтовій кислоті. Не здатні зростати на ксилозі, лактозі, рафінозі через нездатність їх ферментації. Засвоюють нітроген у формі солей амонію і сечовини, не засвоюють нітратний нітроген. Не розріджують желатин.

Зростають *C. glutamicum* за температури $24-40^{\circ}\text{C}$ (оптимальною є $t = 28-30^{\circ}\text{C}$) на середовищах з $\text{pH} = 6-8,5$ (оптимальним значенням pH є $6,8-7,2$), при зростанні на середовищі потребують біотин, тіамін і L-лейцин [35].

C. glutamicum є стійкими до аналогу лізину S-(2-аміноетил)-L-цистеїну та до стрептоміцину. Мають кільцеву хромосому і кругову плазмиду. Геном складається з 3314179 нуклеотидів.

У клітинній поверхні *C. glutamicum* наявний товстий пептидоглікановий шар, як і у інших грампозитивних бактерій, однак у *Corynebacterium glutamicum* присутній другий додатковий бар'єр проникності, утворений двошаровою коротколанцюговою міколієвою кислотою, залишки якої ковалентно зв'язуються з арабіногалактаном, іншим компонентом клітинної стінки, також наявні мезо-діамінопімелінові кислоти. На відміну від інших грампозитивних бактерій *C. glutamicum* проявляють незначний або геть відсутній ріст циліндричної клітинної стінки та в них відсутні актиноподібні елементи цитоскелета, що визначають форму клітини та сегрегацію

хромосом у різних бактерій [9].

3.3. Обґрунтування способу проведення біосинтезу

Культивування мікроорганізмів з метою отримання чистих препаратів амінокислот включають промислові технології із одно- та двоступінчатим синтезом амінокислот. За використання одноступінчатого синтезу в промислових культиваторах вирощують регуляторні мутанти ауксотрофів-надпродуцентів окремих амінокислот. По завершенню робочого циклу їх вирощування, культуральну рідину відділяють від клітин мікроорганізмів, згущують та отримують з неї товарний продукт з високою концентрацією синтезованої бактеріями амінокислоти. За двоступінчатого синтезу амінокислоти спочатку отримують її попередник, потім за допомогою мікробіальних ферментів перетворюють попередник на амінокислоту, при цьому утворюються лише L- ізомери. Джерелом ферменту може слугувати суспензія клітин мікроорганізмів, або отриманий після руйнування цих клітин ферментний розчин [16; 4; 6].

3.3.1. Технологічна схема отримання глютамінової кислоти культурою *Corynebacterium glutamicum*

Принципова технологічна схема отримання глютамінової кислоти включає наступні стадії (рис. 5):

1. отримання посівного матеріалу;
2. приготування поживного середовища, його стерилізація, охолодження і засів готовим посівним матеріалом;
3. вирощування продуцента в ферментаторі до накопичення максимальної кількості глютамінової кислоти;
4. відділення біомаси від культуральної речовини;
5. випаровування та кристалізація глютамінової кислоти [5; 26; 32; 8; 2; 25; 15; 30; 11; 17; 7; 24; 14; 18; 27].



Рис. 5. Принципова схема отримання глутамінової кислоти

Приготування поживного середовища

У промисловому виробництві глютамінової кислоти застосовують кілька штамів *Corynebacterium glutamicum* та їх мутанти. Склад поживного середовища, застосованого для різних штамів, є практично незмінним і лишається постійним на кожній проміжній стадії отримання посівного матеріалу.

У якості основного джерела карбону в середовищі найчастіше використовують мелясу, глюкозу, сахарозу, гідролізати крохмалю, зберігаючи кількість засвоюваного цукру (в перерахунку на сахарозу) на рівні 8,5-25,0 %. Використання меляси визначається вмістом у ній біотину, концентрація якого не повинна перевищувати 2-5 мкг/л поживного середовища. Збільшення концентрації біотину призводить до інтенсивного накопичування аланіну, молочної, бурштинової, аспарагінової кислот, що спричиняє різке зростання приросту біомаси продуцента з одночасним зниженням виходу глютамінової кислоти. Біотин у поживне середовище додатково вносять із кукурудзяним екстрактом.

Джерелом нітрогену в поживних середовищах слугує хлорид амонію або сечовина (друга є активнішим джерелом нітрогену). Сечовину варто вносити у поживне середовище з обережністю у кількості до 2,0 % залежно від особливостей застосованого штаму. Вводиться сечовина дробно, у міру споживання її із середовища, та зберігаючи її вміст у культуральній рідині у концентрації не вищій за 0,8 % збереженні рН середовища в межах 6,8–7,2. Нестача у середовищі нітрогену призводить до зниження синтезу глютамінової кислоти і накопичення в середовищі підвищених кількостей α кетоглутарової кислоти.

Для нормального росту культури необхідно вводити у середовище солі калію і крейду для підтримки рН середовища на оптимальному рівні.

Тривалість культивування залежить від вмісту сухих речовин у середовищі, одночасного або постадійного способу введення компонентів середовища, ступеня аерації середовища, фізіологічних особливостей

продуцента [7].

Склад поживного середовища при виробництві посівного матеріалу за виробництва глютамінової кислоти показано у табл. 3 [3].

Таблиця 3

Склад поживного середовища для посівного матеріалу

Компонент середовища	Вміст, %
Меляса	8,0
Кукурудзяний екстракт	0,3
Хлорид амонію	0,5
Калію фосфат двозаміщений	0,05
Сульфат магнію	0,03
Вода	інше
pH середовища	7,0–7,2

Склад поживного середовища на стадії біосинтезу глютамінової кислоти представлено у табл. 4 [3].

Таблиця 4

Склад поживного середовища для здійснення біосинтезу

Компонент середовища	Вміст, %
Меляса	20,0
Сечовина	до 2,0
Калію фосфат двозаміщений	0,05
Сульфат магнію	0,03
Крейда	1,0
Піногасник (синтетичний)	0,1
Вода	інше
pH середовища	7,0–7,2

Приготування вихідної та посівної культур

Посівний матеріал вирощують у суворо асептичних умовах. Приготування здійснюють спочатку в інокуляторах об'ємом 2 м³, а потім у посівних апаратах об'ємом 5 м³.

Посівний матеріал у кількості 5-6 % (від об'єму апарата) стерильно передають у виробничі ферментери об'ємом 50 м³. Коефіцієнт заповнення виробничого ферментеру при цьому повинен складати 0,7 [28].

Вирощування продуцента

Процес біосинтезу здійснюють у суворо асептичних умовах у

ферментаторах. Тривалість вирощування у ферментаторі складає 48-52 години за інтенсивної аерації – 80-85 мг Ог/(л-хв.). Інтенсивність аерації показує витрати одиниці об'єму повітря на одиницю об'єму середовища за проміжок часу в 1 хв.

Температуру культивування на рівні 28-30°C підтримують на всіх стадіях вирощування продуцента.

Ефективність синтезу глютамінової кислоти залежить від компонентів та їх кількості у ферментаційному середовищі, зокрема від концентрації меляси. За концентрації меляси на рівні 2-4% фізіологічні параметри за глютаміновою кислотою є рівними 0, водночас всі вуглеводи використовуються для росту бактеріальної маси. Зростання концентрації меляси спричиняє поступове нарощування біомаси з одночасним зростанням активності культури за синтезом глютамінової кислоти. Досягаючи максимуму, активність культури зменшується обернено пропорційно до концентрації цукру в середовищі. Коефіцієнт використання цукрів максимальний за мінімальної концентрації вуглеводів. У середовищах із вмістом цукру до 100 г/дм³ розмноження культури завершується впродовж 24 годин, а впродовж наступних 24 години приріст біомаси не перевищує 10 % залишкової кількості культури в культуральній рідині. Зависока концентрація цукру уповільнює розмноження культури, приріст біомаси на другу добу біосинтезу становить 30-50 %.

Синтез глютамінової кислоти є оберненим процесом, за якого у першу добу ферментації сполука накопичується у незначній кількості; впродовж другої спостерігається різке зростання її концентрації. По завершенню росту біомаси необхідно додатково вносити поживні речовини на другій стадії процесу ферментації. Наприкінці процесу біосинтезу готова культуральна рідина містить до 45 г/л глютамінової кислоти, а її вихід відносно спожитих цукрів складає 45-50%.

По завершенню ферментації культуральна рідина із біомасою надходить у реактор з мішалкою. Культуральну рідину підкислюють концентрованою сульфатною кислотою до рН 1,5-2,0. Аби уникнути

значного піноутворення і нагрівання сульфатну кислоту вводять невеликими порціями, періодично перемішуючи рідину впродовж 30-40 хв. Підкислена культуральна рідина подається до фільтраційного обладнання для відокремлення осаду у вигляді біомаси й мінеральних домішок. Отриманий фільтрат збирається у спеціальний збірник.

3.4. Характеристика етапів відділення глютамінової кислоти

Відділення глютамінової кислоти з культуральної рідини і подальше її очищення передбачає послідовність проведення технологічних операцій, наведеній на рис. 6 [3].



Рис. 6. Етапи відділення глютамінової кислоти

Осадження надлишкових іонів здійснюють додаванням негашеного

вапна або вапняного молока з наступним осадженням надлишку іонів кальцію фосфатною кислотою. Утворений при цьому осад сприяє кращому відділенню клітин продуцента та баластних домішок.

Центрифугування проводять із застосуванням центрифуги, водночас здійснюють відділення «бідних» фракцій від «багатих». Перші фракції вміщують початкові та кінцеві об'єми елюату; концентрація глютамінової кислоти у фракції складає не більше 15-20 г/дм³. Другі вміщують глютамінову кислоту у кількості 30-120 г/дм³.

Освітлення фільтрату передбачає очищення від пігментних домішок, що зафарбовують нативний розчин у темний колір. Для освітлення використовують обробку фільтрату активованим вугіллям.

Концентрування освітленого розчину глютамінової кислоти здійснюють вакуум-випарюванням за температури 40-60°C, водночас з вихідного розчину відганяють 50-80 % води.

Осадження кристалів глютамінової кислоти в ізоелектричній точці здійснюють підкисленням концентрату соляною кислотою до рН 3,2 (ізоелектрична точка глютамінової кислоти), після чого розчин охолоджують до температури 4-15°C. Одноразове проведення операції забезпечує кристалізацію 77 % глютамінової кислоти, повторне – 87 % з чистотою одержаних кристалів 88 %. Подальша перекристалізація може збільшити чистоту одержуваних кристалів до 99,6 %.

Відділення кристалів глютамінової кислоти здійснюється фільтрацією на дисковому фільтрі. Отримані кристали промивають водою і направляють на сушку.

Сушку кристалів здійснюють у дисковій розпилювальній сушарці за температури 50-60 °С.

3.5. Обґрунтування вибору технологічного обладнання для отримання глютамінової кислоти

На стадії ферментації використовують біореактор (ферментер), оснащений необхідним контрольним і вимірювальним обладнанням:

датчиками рівня рН, температури, тиску, розчиненого кисню, рівня піни. Конструкція ферментера розроблена таким чином, щоб виключити наявність мертвих зон, які можуть викликати проблеми під час процесу. Внутрішня частина ферментера відполірована до дзеркального блиску та сконструйована з листового металу, має зварні шви, перегородки і змішувач, що значно полегшує стерилізацію й очищення. Ферментер оснащений турбіною Раштона – змішувачем, що складається з горизонтального диска та вертикально встановлених на ньому лопатей. Для збільшення ефективності перемішування можна встановити кілька змішувачів або застосувати перегородки всередині ємності.

Біореактор оснащений рядом підсистем: лінією подачі стерильного газу; системою термостатування і парової стерилізації; системою дозування поживних речовин і інокуляту; системою контролю рівня рН і рівня піни, системою очищення «Clean-In-Place». Корпус біореактора має оглядові вікна, лампи, кількість і розташування яких залежить від потреб замовника і особливості підприємства. Наявна у біореактора система автоматичного управління дозволяє програмувати процес, контролювати поточні значення вимірюваних параметрів. Система автоматичного управління оснащена великим сенсорним екраном з вбудованим PLC, що дозволяє відстежувати графіки і параметри процесу.

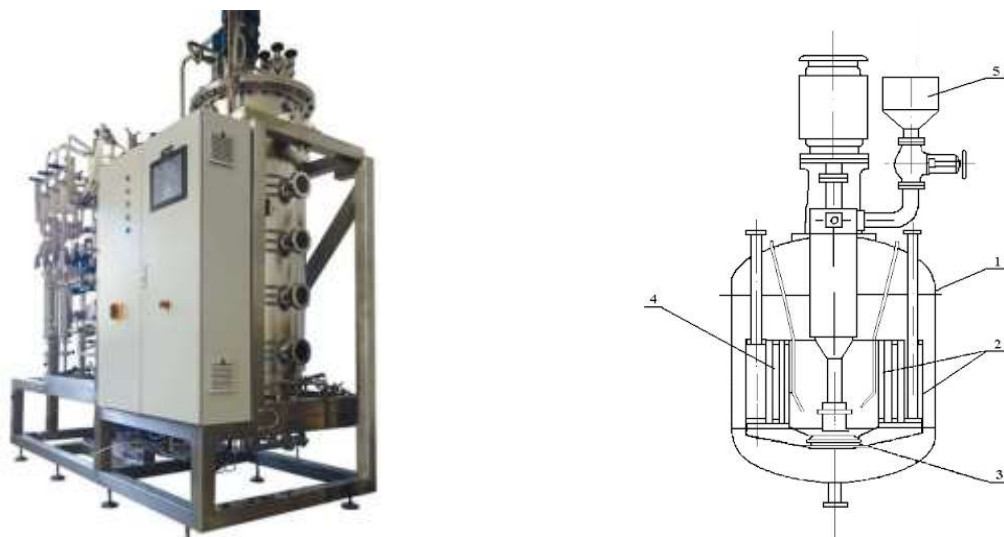


Рис. 7. Загальний вигляд та схема ферментеру: 1 – корпус, 2 – дифуздор, 3 – мішалка, 4 – теплообмінник, 5 – фільтр

Для біосинтезу запропоновано використання біореактору (рис.7), який забезпечує стерильне проведення процесів, контроль температури, рівня рН, тиску у системі, аерацію, видалення піни.

На стадії **осадження надлишкових іонів** запропоновано **використання** ємнісного вертикального чи горизонтального реактора з механічним перемішуванням. В роботі розглянуто вертикальний циліндричний апарат з якірною мішалкою, вісь обертання якої співпадає з віссю корпусу (рис.8).

Апарат обладнаний паровою сорочкою для підтримання температури реакційної суміші.

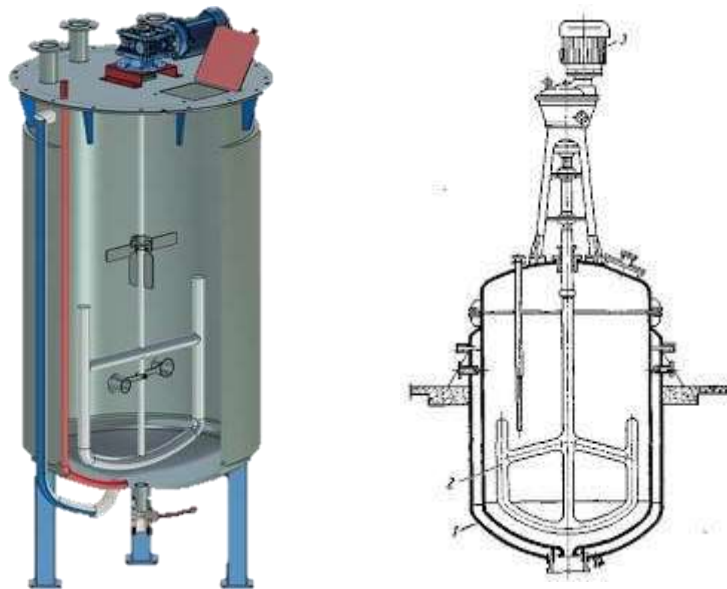


Рис. 8. Загальний вигляд та схема ємнісного реактора з якірною мішалкою

На стадії **центрифугування** запропоновано використання вертикальної центрифуги періодичної дії (рис. 9).

Через живильну трубу в кришці 4 ротора суспензія подається на днище ротора і при його обертанні заповнює робочу частину ротора під дією відцентрових сил. У міру просування суспензії знизу вгору частинки твердої фази осідають на внутрішній поверхні ротора. Після заповнення ротора осадом на 75-85 % центрифугу зупиняють, а осад з ротора видаляють (вручну) через верхній отвір.

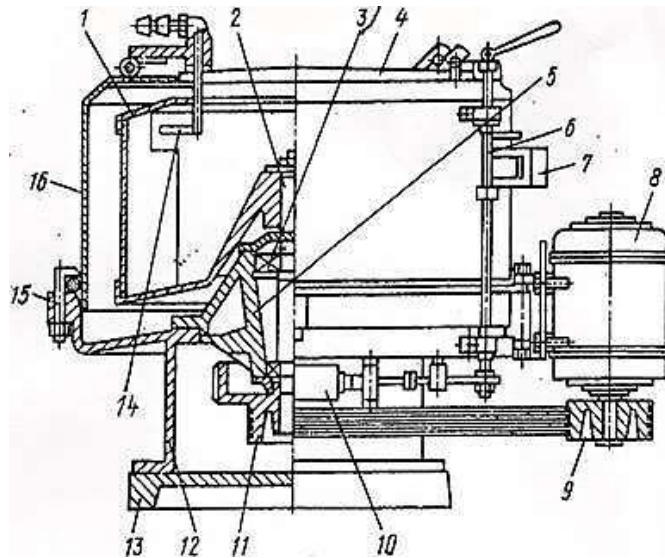


Рис. 9. Схема вертикальної центрифуги періодичної дії: 1 – ротор, 2 – опорний вал, 3 – підшипник, 4 – кришка кожуха, 5 – нерухомий корпус жорсткої опори підшипників, 6 – блокувальний пристрій, 7 – пусковий пристрій, 8 – електродвигун, 9 – шків, 10 – стрічкове гальмо, 11 – ведений шків, 12 – станина, 13 – несуча плита, 14 – відвідна труба для фугату, 15 – фасонні болти кріплення кожуха, 16 – кожух

На стадії освітлення запропоновано використання свічкового фільтру (рис. 10). Фільтрація здійснюється за допомогою фільтрувального засобу з активованим вугіллям на вертикальних фільтрових свічках. Свічковий фільтр характеризується високою ефективністю фільтрації.

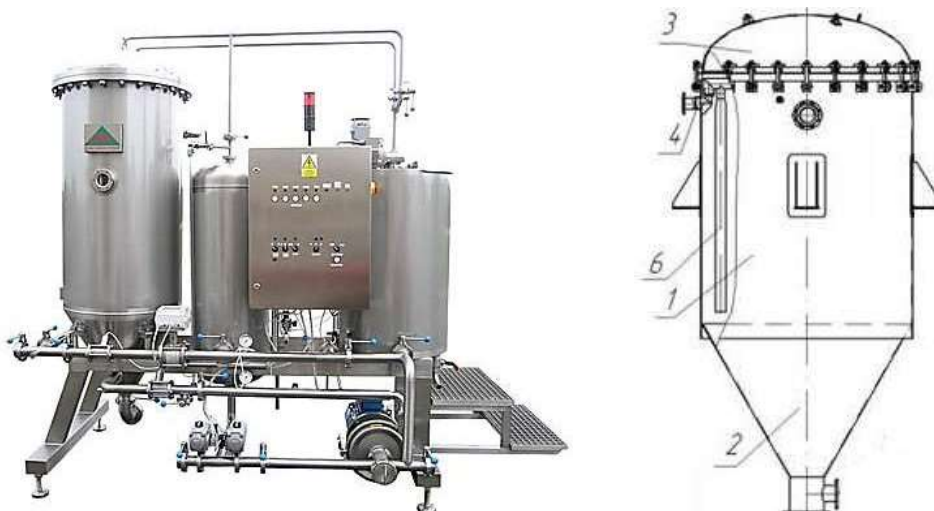


Рис. 10. Зовнішній вигляд та схема свічкового фільтру: 1 – циліндр, 2 – конічне дно, 3 – сферична кришка, 4 – штуцер, 6 – патрон

Залежно від складу шару фільтру можна досягти різних ступенів освітлення та варіювати потік рідини, що фільтрують. Фільтри можуть бути

оснащені приладами для автоматизації процесу. Рекомендована швидкість потоку для фільтру складає 1500-2200 л/год.

Свічка є циліндричним елементом, виготовленим із дроту з неіржавіючої сталі. Дріт має специфічний трапецієподібний переріз, що забезпечує його високу деформаційну стійкість і довговічність. Відповідно, результатом є висока ефективність фільтрації, можливість використання фільтра для тонкої або грубої фільтрації. Фільтрація свічковим фільтром забезпечує невисоку вартість фільтруючого матеріалу і економію при експлуатації.

Для **кристалізації** запропоновано використання вертикального кристалізатору з рамною мішалкою (рис. 11).

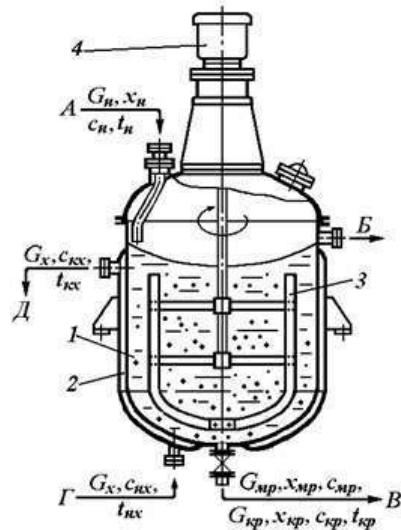


Рис. 11. Загальний вигляд та схема кристалізатору з рамною мішалкою: А – подача розчину, Б – відведення сокової пари, В – відведення кристалічної суспензії, Г – подача гострої пари, Д – відведення конденсату; 1 – корпус, 2 – сорочка обігрівальна парова, 3 – мішалка, 4 – привід мішалки

На стадії **висушування** застосована розпилювальна сушарка (рис. 12). Такий тип сушарки застосовується для сушіння вологих сипких продуктів. Корпус сушарки 9 являє собою циліндричний апарат з конічним днищем. Розчин розпилюється відцентровим пристроєм 13 за допомогою диска 10. Сушильний агент подається у верхню частину установки по газовідвідній трубці 7, на кінці якої встановлений диспергатор 8, призначений для створення в сушильній камері обертального руху теплоносія і його кращого контакту з продуктом.

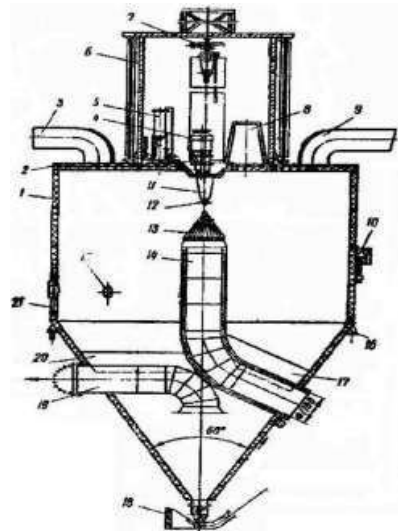


Рис. 12. Загальний вигляд та схема розпилювальної сушарки

Розпоршені краплі продукту підхоплюються потоком і спрямовуються вниз. Волога випаровується, дрібний висушений порошок осідає в конусному днищі, через розвантажувальний пристрій 1 надходить в систему пневмотранспортування. Для струшування частинок, що осіли на стінках, встановлені вібратори 17. Відпрацьований теплоносій видаляється через газовідвідну трубку 2. Для огляду апарату передбачені візок 4, світильник 6, двері 5. На корпусі 9 змонтовані запобіжні клапани 3 і 18 у вигляді відкидаються дисків і патрубки 12 для вихлопу сушильних газів при різкому збільшенні тиску. Для змащення відцентрово-розпилювального пристрою 13 у верхній частині встановлений масляний фільтр 14. Підйом розпилювального пристрою здійснюється електроталлю 15, що закріплена на шатрі 16.

Загальна технологічна схема виробництва глютамінової кислоти представлена на рис. 13.

Для отримання глютамінової кислоти зі сховища м'яси 1 відбирають розраховану кількість м'яси та направляють у реактор змішувач 2. В реакторі-змішувачі 2 поживне середовище перемішується з мінералами сполуками. Далі середовище подається до системи стерилізації. Ця система складається з стерилізаційної колони 3 та витримувача 4. Після чого середовище охолоджують в теплообміннику 5.

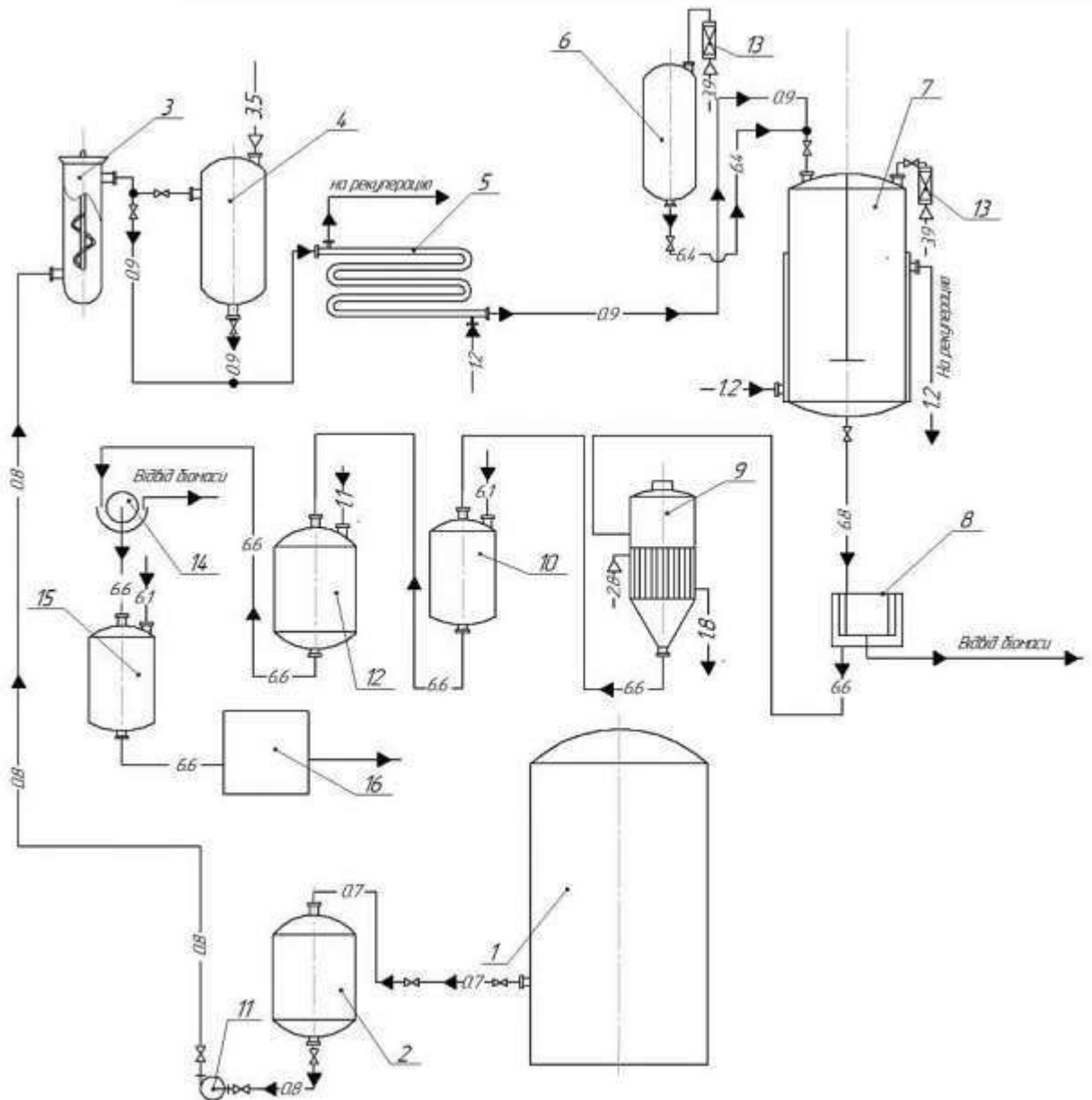


Рис. 13. Технологічна схема виробництва глутамінової кислоти [24]: 1 – сховище м'яси; 2,12 – реактор-змішувач; 3 – стерилізаційна колона; 4 – витримувач; 5 – теплообмінник; 6 – посівний апарат; 7 – ферментер; 8 – центрифуга; 9 – випарний апарат; 11 – насос; 10,15 – кристалізатор; 13 – індивідуальний повітряний фільтр; 14 – барабанний-вакуум фільтр; 16 – сушарка

Частина середовища з теплообмінника надходить у інокулятор 6. Інша частина разом з посівним матеріалом з інокулятора надходить до ферментера 7. Повітря для аерації подається через індивідуальний повітряний фільтр 13. З ферментера культуральна рідина потрапляє на центрифугу 14. В вакуум-випарному апараті 9 здійснюється концентрування рідини.

В кристалізаторі 10 відбувається попередня кристалізація з

підкисленням сульфатною кислотою. Далі в реакторі-змішувачі 12 глютамінову кислоту змішують з водою, щоб на кристалізаторі 15 отримати більший відсоток виходу чистої глютамінової кислоти. На барабанному вакуум фільтрі 14 відділяють надлишкову рідину. В сушарці 16 проводиться сушка глютамінової кислоти.

Отже, можна зробити **висновок**, що бактерії роду *C. glutamicum* є широко застосованими у промисловості для виробництва амінокислот, у тому числі глютамінової кислоти.

При промисловому культивуванні в якості джерела вуглецю запропоновано використання меляси. Відповідно до цього обрано одно стадійний спосіб отримання глютамінової кислоти.

Запропонована промислова технологічна схема отримання глютамінової кислоти налічує наступні стадії: отримання посівного матеріалу; приготування поживного середовища, стерилізація поживного середовища, охолодження і засів готовим посівним матеріалом; вирощування продуцента в ферментаторі; виділення глютамінової кислоти у кристалічному вигляді, сушка кристалів.

3.6. КОНТРОЛЬ ЯОСТІ ГОТОВОГО ПРОДУКТУ

Виробництво лікарських засобів, харчових добавок і хімічних реактивів високого ступеня чистоти із застосуванням мікробного синтезу здійснюється відповідно методик, зазначених у технологічних регламентах і виробничих інструкціях. Контроль у процесі виробництва не повинен заважати та негативно впливати на здійснення технологічного процесу і якість продукції. На всіх стадіях технологічного процесу, включаючи стадії, що передують стерилізації, необхідно проводити заходи, які зводять до мінімуму мікробну контамінацію.

Контроль та етапі біосинтезу включає етапи: перевірка на чистоту виробничих приміщень і персоналу; перевірка обладнання; перевірка лабораторією підприємства якості вихідної сировини та мікробіологічної чистоти поживного середовища [1].

У процесі біосинтезу здійснюють біологічний контроль, який враховує споживання організмом основних поживних компонентів середовища (джерел нітрогену, вуглецю, фосфору). Контроль здійснюють за допомогою автоматичних комп'ютерних систем. Аерація зростаючої культури теж є важливою (здійснюють барботування повітрям середовища).

Контроль за ходом технологічного процесу здійснюють на всіх його етапах. При цьому визначають оптичну щільність розчину культуральної рідини (за вмістом клітин продуцента), склад субстрату в суміші, контролюють рівень рН та розчиненого кисню в ферментаційному середовищі. В кінці процесу біосинтезу вміст глютамінової кислоти у культуральній рідині досягає 45 г/л, а концентрація остаточного субстрату при цьому складає не більше 0,5-1,0% [27; 3].

Контроль готового продукту на промисловому підприємстві здійснюють незалежна служба контролю якості та дослідна лабораторія. Лабораторія відокремлена від виробничих приміщень та інших лабораторій (мікробіологічної, біологічної). Готова продукція не реалізується до поки її якість не буде визнана задовільною і відповідати паспорту якості (табл. 5).

Таблиця 5

Паспорт якост L-глютамінової кислоти [14]

Фізичні і хімічні показники	
Агрегатний стан	твердий
Форма	порошок, кристали
Колір	білий
Запах	характерний
рН	3,0 - 3,5 (10% водний розчин, 25 °С)
Температура плавлення	213 °С
Самозаймання	Матеріал є горючим, але без властивостей самозаймання
Тиск газу	<0,001 Па при 20 °С
Густина	1,54 г/см ³ при 20 °С
Об'ємна густина	460 кг/м ³
Розчинність у воді	8,6 г/л при 25 °С
Поверхневий натяг	74,2 mN/m

В лабораторіях використовують одночасно не один метод для ідентифікації глютамінової кислоти, перелік яких є доволі широким. Зокрема використовують кольорову реакцію з нінгідрином [18], в результаті якої (спільна для амінокислот) утворюється амонійна сіль енольної форми. Утворена сіль дікетогідринденкетогідринаміну має синьо-фіолетове

зabarвлення.

Метод інфрачервоної спектроскопії дозволяє провести ідентифікацію й оперативний контроль вихідної сировини і готової продукції [18].

Ідентифікацію проводять спектрофотометрично. В основі – взаємодія кислоти з алоксаном у середовищі вода-диметилформамід [18]. Продуктом реакції є забарвлений комплекс з максимумом поглинання за 450 нм.

Ще одним методом ідентифікації є кольорова реакція з резорцином у присутності концентрованої сульфатної кислоти (H_2SO_4 спричиняє внутрішньомолекулярну дегідратацію з отриманням піролідонкарбонової кислоти, яка конденсується з резорцином). Виникає сплав червоного кольору, розкладаний в аміачних розчинах із набуттям флуоресцентного фіолетово-червоного забарвлення з зеленим відтінком [18].

Для встановлення кількості глютамінової кислоти використовують метод формолового титрування (метод Серенсена). До глютамінової кислоти додають нейтралізований (перевірка фенолфталеїном) розчин формальдегіду, в результаті чого аміногрупа блокується й утворюється N-метиліденова похідна – азометан, яку титрують розчином луку [18; 27].

Застосовують і метод К'ельдаля для визначення глютамінової кислоти. Суть методу полягає в розкладанні глютамінової кислоти до NH_4HSO_4 .

Куприметричне титрування використовує реакцію глютамінової кислоти з іонами міді (II), що супроводжується виникненням хелатних комплексів. Іони водню, що виділяються, нейтралізують фосфатним або боратним буфером. Надлишок іонів міді видаляють у вигляді осаду малорозчинної солі або гідроксиду [27].

Кольорову реакцію глютамінової кислоти з алоксаном використовують для фотоколориметричного визначення. Для цього отримують розчини стандартних зразків, переводять їх у амонієву сіль пурпурової кислоти. Вимірюють фотоколориметром оптичну густину, будують калібрувальний графік залежно від інтенсивності поглинання розчинів залежно від концентрації, вимірюють оптичну густину зразка, за калібрувальним графіком розраховують вміст глютамінової кислоти [27].

4. ЕКОНОМІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ

Організація виробництва харчової добавки глютамінова кислота повним мікробним синтезом пропонуємо здійснювати на підприємстві за безперервного виробництва, у 3 зміни, 8 годин кожна. За рік планується виробляти 40 серій по 1000 кг кожна, всього 40000 кг. Розрахуємо час роботи обладнання, результати наведено в табл. 6.

Таблиця 6. Баланс часу роботи обладнання

Фонд часу роботи обладнання	Мовні позначки	Показники	
		Дні	години
Календарний	Φ_k	365	8760
Неробочий час:			
а) вихідні дні	$\Phi_{вих}$	54	1296
б) святкові дні	$\Phi_{свят}$	11	264
Номінальний	Φ_n	300	7200
Зупинки:			
а) на ремонт	$\Phi_{рем}$	20	480
б) з технологічних причин	$\Phi_{тех}$	8	192
Ефективний час роботи обладнання	Φ_e	272	6528

Виробнича потужність цеху за провідним обладнанням складає: $M = 1 \times 141 \times 6528 = 920448$ пак./рік.

Оскільки у цеху випускаються й інші харчові добавки, то розрахуємо питому вагу глютамінової кислоти у загальному обсязі продукції, що випускається даним цехом. $\alpha = \frac{40000}{920448} \times 100 = 4,3\%$. За наведеними розрахунками видно, що виробництво глютамінової кислоти займає 4,3% від загального обсягу продукції цеху.

Розрахуймо вартість обладнання, будівель та споруд, що використовуються для виробництва. Специфікація та вартість обладнання наведена в табл. 7.

Таблиця 7. Специфікація та вартість обладнання

Найменування обладнання	Кількість одиниць обладнання, шт	Вартість одиниці обладнання, грн	Загальна вартість обладнання, грн
Реактор 100 л	1	2456700	2456700
Реактор 1000 л	1	4356200	4356200
Інокулятор 100 л	1	567400	567400
Інокулятор 1000 л	1	675400	675400
Ферментер 1000 л	1	2336500	2336500

Реактор 8000 л	1	3124300	3124300
Центрифуга промислова	1	1243700	1243700
Вакуум-випарна установка	1	3245300	3245300
Сушарка	1	1100000	1100000
Кристалізатор	1	976500	976500
Пакувальна лінія	1	1560000	1560000
Всього:	11		21642000

Для організації виробництва в основному цеху ферментації в роботі пропонуємо встановлення 2 додаткових ферментерів – на 1250 л та на 8000 л, все інше обладнання присутнє на підприємстві. Для визначення підсумкової вартості обладнання слід врахувати 20% від його вартості як невраховане обладнання. Отримані результати наведені в табл. 8.

Таблиця 8. *Вартість основних засобів*

№	Найменування статті	Вартість обладнання, грн
1.	Вартість основного обладнання	21642000
2.	В т.ч. Ферментера 1250 л та Ферментер 8000 л	5460800
3.	Невраховане обладнання	4328400
4.	в т.ч. Ферментера 1250 л та Ферментер 8000 л	1092160
	Всього	25970400
5.	в т.ч. Ферментера 1250 л та Ферментер 8000 л	6552960
6.	Будинки та споруди	45673200
7.	Всього	71643600

Отже, вартість основних засобів після їх оновлення складе 71643600 грн, у тому числі нового обладнання, а саме в ферментера 1250 л та ферментер 8000 л. – 6552960 грн.

Розрахунок зміни вартості основних засобів до та після вводу нового обладнання наведено в табл. 9.

Таблиця 9. **Розрахунок зміни вартості основних засобів після переоснащення**

№ п/п	Об'єкт	Вартість, грн		Приріст, грн
		за даними підприємства	за даними проекту	
1	Будівлі і споруди	45673200	45673200	---
2	Обладнання	19417440	25970400	+6552960
4	Всього	65090640	71643600	+6552960

Розраховуємо загальний фонд оплати праці робітників цеху (табл. 10).

Таблиця 10. Баланс робочого часу робітника

Витрата часу	Показники	
	Дні	Години
Календарний фонд робочого часу	365	2920
Кількість вихідних днів	108	864
Кількість святкових днів	11	88
Кількість неробочих днів	129	1032
Номінальний фонд робочого часу	246	1968
Невиходи, які плануються	30	240
Тарифні відпустки	24	192
Хвороби	5	40
Декретні відпустки	-	-
Інші невиходи із дозволу адміністрації	3	24
Кількість робочих днів	184	1472
Кількість передсвяткових днів, в які тривалість робочого дня зменшується на одну годину	7	7
Ефективний фонд робочого часу	184	1465

Виходячи із ефективного фонду робочого часу у розмірі 1465 год. розраховуємо загальний фонд заробітної плати (табл. 11), що складається з фонду основної заробітної плати та фонду додаткової заробітної плати, яка складає 50% від фонду основної заробітної плати.

Таблиця 11. Розрахунок чисельності і заробітної плати основних і допоміжних робітників.

Професія	Кількість робітників	Розрахунок тарифної ставки, грн.		Розрахунок фонду оплати праці, грн		
		за год.	за зміну	Основна заробітна плата	Додаткова заробітна плата	Фонд оплати праці
Основні робітники:						
Оператор автоматизованої лінії	6	48,0	768	421920	210960	632880
Оператор пакувальної лінії	3	48,0	384	210960	105480	316440
Майстер цеху	3	50,0	400	219750	109875	329625
Електрик	3	47,0	376	206565	103282,5	309847,5
Лаборант-біолог	3	48,0	384	210960	105480	316440
Разом	18			1270155	635077,5	1905233
Допоміжні робітники:						
Прибиральниця	3	34,0	272	149430	74715	224145
Вантажник	9	35,0	840	461475	230737,5	692212,5
Разом	12			610905	305452,5	916357,5
Всього робітників	30			1881060	940530	2821591

Розрахунок собівартості харчової добавки глутамат натрію наведений в табл. 13 на підставі розрахунку витрат сировини та матеріалів на серію (1000 кг), що представлений у табл. 12.

Таблиця 12. Розрахунок витрат на сировину та матеріали на 1000 кг

Найменування матеріалу	Од. вимір.	Норма витрат	Ціна за одиницю, грн	Сума, грн
Сировина та основні матеріали				
м'яса	кг	6000	5	30000
натрію гідроксид	кг	300	64	19200
карбонат кальцію	кг	300	68	20400
натрію гідроксид, технічний	кг	200	76	15200
сечовина	кг	75	97	7275
калію гідрофосфат	кг	15	88	1320
магнію сульфат	кг	9	89	801
амонію хлорид	кг	4	443	1772
спирт етиловий, технічний	л	42	1	42
Всього				96010
Допоміжні матеріали				
Пакет Zip-Lock	кг	1000	2	2000
Всього				98010

Таблиця 13. Проектна калькуляція собівартості харчової добавки глутамінова кислота. Калькуляційна одиниця – 1000 пакетів Zip-Lock

№ п/п	Статті витрат	Сума, грн
1	Сировина та основні матеріали	96010
2	Допоміжні матеріали	2000
3	Транспортно-заготівельні витрати	482,98
	Всього	98492,98
4	Заробітна плата	2048,12
4.1	Основна заробітна плата	1365,41
4.2	Додаткова заробітна плата	682,71
5	Відрахування на соціальні заходи	441,07
6	Загальновиробничі витрати	3413,52
7	Виробнича собівартість	104395,7
8	Адміністративні витрати	3003,90
9	Витрати на збут	477,89
10	Інші операційні витрати	887,52
11	Повна собівартість	108765
12	Договірна ціна	125000
13	Рентабельність, %	15

ВИСНОВКИ ТА ПРОПОЗИЦІЇ

1. У роботі досліджено властивості глютамінової кислоти та способи її промислового виробництва, встановлено галузі її застосування.
2. Вивчено властивості *Corynebacterium glutamicum* та обґрунтована її придатність до виробництва глютамінової кислоти.
3. Визначено склад поживного середовища для здійснення виробничого біосинтезу глютамінової кислоти, основними елементами якого визначено м'ясо та сечовину. Склад поживного середовища для культивування *Corynebacterium glutamicum* передбачає вміст мінеральних солей та органічних сполук. Обрано раціональні параметри культивування: температура 28-30°C, тривалість 48-52 год., рН 7,0 - 7,2, передбачена інтенсивна аерація середовища.
4. Обґрунтовано вибір ферментеру з турбінною мішалкою та барботером. Запропоновано використання ємнісного реактора з якірною мішалкою для осадження іонів, вертикальної осаджувальної центрифуги, свічкового фільтру для освітлення, ємнісного реактора з рамною мішалкою для кристалізації, розпилювальної сушарки для сушіння кристалічної маси продукту з наступним пакуванням її у пластикові бочки.
5. Економічні розрахунки щодо оснащення цеху з виробництва глютамінової кислоти повним мікробним синтезом на підприємстві свідчать про те, що чистий дохід складе 66102,72 грн. Економічні заходи окупаються за 0,81 року. Рентабельність продукції становить 15%.
6. Запропоновано виробництво харчової добавки повним мікробним синтезом з допомогою *Corynebacterium glutamicum*.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Carrillo, Y. S., Ulloa, J. A., Silvas, J. E. U., Ramírez, J. C. R., & Leyva, R. G. (2024). Physicochemical and functional characteristics of a gourd (*Cucurbita argyrosperma* Huber) seed protein isolate subjected to high-intensity ultrasound. *Heliyon*, *10*(11).
2. Characterization of developmental colony formation in *Corynebacterium glutamicum*. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2008. Vol. №81(1). P. 127.
3. Elbanna, K., Alsulami, F. S., Neyaz, L. A., & Abulreesh, H. H. (2024). Poly (γ) glutamic acid: A unique microbial biopolymer with diverse commercial applicability. *Frontiers in microbiology*, *15*, 1348411.
4. Garattini, S. (2000). Glutamic acid, twenty years later. *The Journal of nutrition*, *130*(4), 901S-909S.
5. Hansen A.M., Caspi R.R. Glutamate joins the ranks of immunomodulators. *Nat. Med.* 2010. Vol. 16. N 8. P. 856 – 858
6. Heidelberger, M. (1956). Chemical constitution and immunological specificity. *Annual Review of Biochemistry*, *25*(1), 641-658.
7. Hockberger P. E. A history of ultraviolet photobiology for humans, animals and microorganisms. *Photochemistry and Photobiology*. Vol. № 76 (6) P. 561 - 79.
8. Kinoshita S Glutamic acid bacteria. In: Demain AL, Solomon NA (eds) *Biology of industrial microorganisms*. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. California. 1985. P. 115 - 140.
9. Kirstein C. L., Coopersmith R., Bridges R. J., Leon M. Glutathione levels in olfactory and non-olfactory neural structures of rats. *Mol. Aspects. Med.* 2009. Vol. 30. N 1 - 2. P. 99 - 110.
10. Okwudiri, O. O., Sylvanus, A. C., & Peace, I. A. (2012). Monosodium glutamate induces oxidative stress and affects glucose metabolism in the kidney of rats. *International Journal of Biochemistry Research & Review*, *2*(1), 1.
11. T. Nakanishi, J. Nakajima, K. Kanda, Conditions for conversion of L-glutamic acid fermentation by *Corynebacterium glutamicum* in to L-glutamine production, *J. Ferment. Technol.* Vol. №53. 1975. P. 543-550.
12. Takano, H., Shimizu, A., Shibosawa, R., Sasaki, R., Iwagaki, S., Minagawa, O., ... & Ueda, K. (2008). Characterization of developmental colony formation in *Corynebacterium glutamicum*. *Applied microbiology and biotechnology*, *81*, 127-134.
13. Zareian, M., Ebrahimpour, A., Bakar, F. A., Mohamed, A. K. S., Forghani, B., Ab-Kadir, M. S. B., & Saari, N. (2012). A glutamic acid-producing lactic acid

bacteria isolated from Malaysian fermented foods. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(5), 5482-5497.

14. Береславська, Ю. (2024). Організація виробництва харчової добавки глутамату натрію мікробіологічним синтезом.

15. Борисова, К. В. (2025). Дослідження способів отримання засобів для спортивного харчування на основі амінокислот з розгалуженим ланцюгом.

16. Борисова, Т. О. (2019). Na^+ -залежний транспорт глутамату та екзоцитоз в нервових терміналях головного мозку за умов гіпотермії.

17. Буценко, Л. М., Пенчук, Ю. М., & Пирог, Т. П. (2010). Технології мікробного синтезу лікарських засобів.

18. Васюк, С. О., Коржова, А. С., & Монайкіна, Ю. В. (2017). Контроль якості продуктів харчування та харчових добавок. Модуль 1: навч.-метод. посібник для студентів 5 курсу фармацевтичного факультету спеціальності "Фармація".

19. Горячковський, О. М. (2005). Клінічна біохімія в лабораторній діагностиці: Довідковий посібник. *Одеса: Екологія*, 616.

20. Державна фармакопея України. Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». Харків: РІРЕГ, 2001. Доп. 1. 2004. 520 с.

21. Закідишева, Л. (2021). Теоретичні аспекти імуномодуючої дії харчових продуктів. *ОСВІТА І НАУКА*, (1).

22. Западнюк В.І., Кураш Л.П., Заїка М.І. Амінокислоти в медицині. Київ: Здоров'я, 1982. 200 с.

23. Ізмайлова, О. В. Фармакологічна корекція м'язової енергії.

24. Конспект лекцій з дисципліни «Асептика біотехнологічних виробництв» освітньо-професійної програми другого (магістерського) рівня вищої освіти зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» усіх форм навчання / Укл.: Головей О.П., Гуляєв В.М. Кам'янське : ДДТУ, 2017 р., 140 с.

25. Контроль якості продуктів харчування та харчових добавок. Модуль 1: навч.-метод. посібник для студентів 5 курсу фармацевтичного факультету спеціальності «Фармація» / уклад.: С.О. Васюк, А. С. Коржова, Ю.В. Монайкіна. Запоріжжя : ЗДМУ, 2017. 131 с.

26. Коржов В. И., Жадан В. Н., Коржов М. В. Роль системы глутатиона в процессах детоксикации и антиоксидантной защиты. *Журнал АМН України*. 2007. Т. 13. № 1. С. 3 - 20.

27. Кузнецова, Т. О., & Гурікова, І. М. (2010). Харчова хімія. Лабораторний практикум.

28. Курбат, М. Н. (2009). L-Глутамат: сучасний погляд на відому амінокислоту. *Нейрохімія*, 26(3), 202-207.
29. Любич, Л. Д., Лісяний, М. І., Малишева, Т. А., Семенова, В. М., Стайно, Л. П., & Васлович, В. В. (2016). Морфометрична характеристика TGF- β 1-позитивних клітин фетального мозку щура *in vitro*. *Клітинна та органна трансплантологія*, (4, № 2), 206-210.
30. Пат. RU 2107723 С1. Штамм бактерій *Corynebacterium glutamicum* в-7198-продуцент l-глутаминової кислоти. Винаров А. Ю., Сидоренко Т. Е., Яшина В. Н., Гордеева Е. И. Заявл. 27.09.2013; Опубл. 27.03.1998.
31. Піддубний, В. А. (2007). Наукові основи і апаратурне оформлення перехідних процесів харчових і мікробіологічних виробництв. К.: НУХТ.– 2008.–47 с.
32. Пономарьов П.Х., Сирохман І.В. Безпека харчових продуктів та продовольчої сировини : навч. посіб. К.: Лібра, 1999. 272 с.
33. Романець, О. Б. (2024). Розробка протоколу фармацевта при відпуску Гепатопротекторів.
34. Салига, Н. О. (2013). Активність глутатіонової системи антиоксидантного захисту в щурів за дії L-глутамінової кислоти. *Український біохімічний журнал*, (85, № 4), 40-47.
35. Сирова А.О., Шаповал Л.Г., Макаров В.А. Амінокислоти очима хіміків, фармацевтів, біологів. Х.: Щедра садиба плюс, 2014. 228 с.
36. Сметана, О. Ю., & Сметана, А. Ю. (2017). Сільськогосподарська біотехнологія.
37. Франчук-Крива, Л., Кривий, М., Гребенюкова, К., Франчук-Кривая, Л., Кривой, Н., & Гребенюкова, Е. (2021). Ефективність застосування L-глутамінової кислоти у клінічно здорових котів геріатричного віку.
38. Фуртат, І., Тимошок, Н., Ногіна, Т., Співак, М., & Михальський, Л. (2005). Деякі імунобіологічні характеристики препаратів клітин *corynebacterium glutamicum*.
39. Цехмістренко, С. І., Бітюцький, В. С., Цехмістренко, О. С., Демченко, О. А., Тимошок, Н. О., & Мельниченко, О. М. (2022). Екологічні біотехнології “зеленого” синтезу наночастинок металів, оксидів металів, металоїдів та їх використання.
40. Шуаїбов, О. К., Грицак, Р. В., & Малініна, А. О. (2023). Вступ до біомедичної інженерії