

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ, МОЛОДІ ТА СПОРТУ УКРАЇНИ  
ДНІПРОДЗЕРЖИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ТЕХНІЧНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ

О.Ю.Філімоненко

КОНСПЕКТ ЛЕКЦІЙ  
з дисципліни «Технологія біологічно - активних речовин»  
для студентів денної та заочної форм навчання  
напряму 6.051401 «Біотехнологія»

Затверджено  
редакційно-видавничою секцією  
науково-методичної ради ДДТУ  
\_\_\_\_\_, протокол № \_\_

Дніпродзержинськ

2013

Розповсюдження і тиражування без офіційного дозволу Дніпродзержинського державного технічного університету заборонено

Конспект лекцій з дисципліни „Технологія біологічно - активних речовин” для студентів денної та заочної форм навчання напряму 6.051401 „Біотехнологія”/ Укл.: старший викладач Філімоненко О.Ю. – Дніпродзержинськ, ДДТУ, 2013. –101 с.

Укладачі: ст. викладач Філімоненко О.Ю.

Відповідальний за випуск: д.х.н., професор Кузнецов О.О.

Рецензент: к.т.н., доцент кафедри ПБЗХ Маховський В.О.

Затверджено на засіданні кафедри

промислової біотехнології та загальної хімії,

протокол № 6 від 16.01.2013 р.

Коротка анотація видання. Конспект лекцій складений з урахуванням робочої програми з дисципліни „Технологія біологічно - активних речовин”. Містить основні типи природних і синтетичних біологічно активних речовин (БАР), критерій, що оцінюють їх активність. Описуються основні технологічні прийоми та схеми синтезу. Наведено принципи й основні технологічні стадії мікробіологічного синтезу БАР.

## Зміст

Вступ .....	4
<b>ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 1</b> .....	<b>5</b>
Розділ I. Біологічно активні речовини та закономірності їх синтезу .....	5
Тема Т1. Поняття про біологічно активні речовини .....	5
Тема Т2. Класифікація біологічно активних речовин .....	8
Тема Т3. Загальні закономірності синтезу БАР .....	18
Розділ II. Технології виробництва органічних кислот .....	24
Тема Т4. Технологія виробництва лимонної кислоти .....	24
Тема Т5. Технологія виробництва молочної кислоти .....	33
Тема Т6. Технологія виробництва оцтової кислоти .....	44
Тема Т7. Технологія виробництва ітаконової кислоти .....	48
<b>ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 2</b> .....	<b>52</b>
Розділ III. Технології виробництва амінокислот .....	52
Тема Т9. Технологія виробництва глутамінової кислоти .....	53
Тема Т10. Технологія виробництва лізину .....	61
РОЗДІЛ IV. Технології білкових препаратів та ліпідів .....	67
Тема Т12. Технологія одержання білкових препаратів .....	67
Тема Т13. Технологія одержання ліпідів .....	72
РОЗДІЛ V. Технології одержання фармацевтичних препаратів .....	77
Тема Т14. Технологія виробництва ферментних препаратів .....	77
Тема Т15. Технологія виробництва антибіотиків .....	83
Тема Т16. Технологія одержання вітамінних препаратів .....	87
Тема Т17. Тверді лікарські форми пролонгованої дії. Мікрокапсулювання лікарських речовин .....	95
Перелік рекомендованої літератури .....	100

## Вступ

В основі вивчення предмета технології БАР лежать знання про способи й засоби проведення виробничих процесів одержання біологічно активних речовин як із простих хімічних сполук, так й у процесі обміну речовин у живому організмі.

При розробці нових технологій синтезу й біосинтезу БАР необхідні знання в області мікробіології, біотехнології, біохімії, основного й тонкого органічного синтезу, а також інженерних наук для промислової реалізації синтезу й біосинтезу БАР.

В конспекті лекцій наведені основні типи природних і синтетичних БАР, традиційне й сучасне поняття БАР і критерій його біологічної активності, особливості технології синтезу й біосинтезу лікарських препаратів й їхніх попередників. Описуються основні технологічні прийоми й схеми синтезу БАР й їхніх попередників, механізм протікання хімічних реакцій утворення цих речовин.

Даний конспект лекцій має на меті не тільки допомогти студентам в освоєнні матеріалу, придбанні глибоких знань, але й застосувати на практиці отриманні знання.

Наприкінці кожної теми наведені контрольні питання для самостійної перевірки знань.

## **ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 1**

### **Розділ I. Біологічно активні речовини та закономірності їх синтезу**

#### **Тема Т1. Поняття про біологічно активні речовини**

Біологічно активні речовини (БАР) - (грец. bios — життя, що означає зв'язок із життєвими процесами і відповідає слову «біол.» + лат. activus - активний, тобто речовина, яка має біологічну активність) - це сполуки, що внаслідок своїх фізико-хімічних властивостей мають певну специфічну активність і виконують або впливають, змінюють каталітичну (ферменти, вітаміни, коферменти), енергетичну (вуглеводи, ліпіди), пластичну (вуглеводи, ліпіди, білки), регуляторну (гормони, пептиди) або іншу функцію в організмі.

Біологічно активні речовини – хімічні речовини, необхідні для підтримки життєдіяльності живих організмів, що володіють високою фізіологічною активністю при невеликих концентраціях стосовно певних груп живих організмів або їхніх клітин, злоякісним пухлинам, вибірково затримуючи (або прискорюючи) їх ріст або повністю придушуючи їх розвиток.

При розробці нових технологій синтезу й біосинтезу БАВ необхідні знання в області мікробіології, біотехнології, біохімії, основного й тонкого органічного синтезу, а також інженерних наук для промислової реалізації синтезу й біосинтезу БАР.

Потреба в біологічно активних речовинах на сучасному етапі тісно пов'язана з рішенням широкого кола проблем інтенсифікації виробництва й екологічним оздоровленням навколишнього середовища, а саме:

- одержання нових видів продуктів різного призначення й у першу чергу препаратів профілактичної й терапевтичної дії;
- утилізація відходів промисловості й сільського господарства;
- одержання екологічно безпечних засобів захисту сільськогосподарських рослин від хвороб, шкідників, бур'янистих рослин для підвищення їх біологічної продуктивності.

У цей час промисловістю виробляється різноманітний асортимент біологічно активних речовин медичного, харчового, сільськогосподарського призначення (антибіотики, вакцини, ферменти, полісахариди, гормони, глікозиди, кормові й харчові добавки, білки, амінокислоти, вітаміни, алкалоїди, пестициди, дефоліанти й інші).

Однією з найважливіших властивостей БАР є їх біологічна активність. Вона залежить від рівня рН середовища, температури і може втрачатись у процесі нагрівання в результаті підвищення локальних значень температур, утворення нерівномірності потоків розчину, перегріву пристінного шару розчину понад температур термічної стійкості та тривалому часі обробки.

За одиницю біологічної активності хімічної речовини приймають мінімальну кількість цієї речовини, здатної пригнічувати розвиток чи затримувати ріст певного числа клітин, тканин стандартного штаму (біотесту) в одиниці поживного середовища.

У цей час відомий широкий спектр біологічно активних речовин різного призначення, які можуть бути або отримані із природних живих організмів, або синтезовані за допомогою різних хімічних перетворень.

Для кожного виду БАР існують свої методи визначення біологічної активності. Так, для ферментів, метод визначення активності Е полягає у реєстрації швидкості зникнення субстрату (S) (речовини, на яку діє фермент) чи швидкості утворення продуктів реакції ([P]). Активність виражають у міжнародних одиницях (ME — це така

кількість ферменту, яка при заданих умовах каталізує перетворення 1 мікромолу субстрату за 1 хв.). При проведенні досліджень активність дослідного зразка порівнюють з активністю стандартного зразка при однакових умовах і розраховують активність А в відповідних одиницях МЕ.

Для кожного вітаміну існує свій метод визначення активності (кількості вітаміну в дослідному зразку (наприклад, таблетках) в одиницях МЕ). Ці методи складні і вимагають використання високоточного, дорогого та складного обладнання (спектрофотометрів, флуорометрів та ін.), багатьох хімічних реактивів і проведення складних розрахунків. При проведенні досліджень необхідно мати досвід роботи з обладнанням, хімічними речовинами, мати навички побудови калібрувальних графіків. До найбільш розповсюджених методів відносяться методи візуального титрування, високоефективної хроматографії та інверсійної вольтамперометрії.

При виробництві БАР на стадіях зазначених в технологічному регламенті проводять контроль якості отриманої продукції по різним критеріям. Серед них, одним з найголовніших, є задана для певного виду БАР біологічна активність. Тому при виробництві БАР дуже важливо правильно підібрати технологічні режими їх обробки, які б забезпечували максимальну якість при мінімальних затратах теплової енергії.

Головним джерелом надходження БАР в організм є ліки, харчові та інші продукти. Багато БАР потрапляє в організм із навколишнього середовища з повітрям та питною водою. В умовах зростаючого хімічного забруднення довкілля до організму людини може потрапляти велика кількість ксенобіотиків, які можуть викликати захворювання. Біологічну активність мають алкоголь, отруйні речовини, що містяться у тютюновому димі та наркотичних речовинах.

Основними функціями БАР є:

- клітинний обмін речовин в організмі;
- перетворення речовин;
- синтез необхідних речовин;
- каталізація біореакцій в організмі.

Основними характерними властивостями БАР є:

- термолабільність,
- біологічна активність,
- вплив на них активаторів та інгібіторів,
- стерильність отримання та ін.

*Контрольні питання до теми Т1:*

1. Дайте визначення термінам: біологічно активна речовина, біологічна активність.
2. Назвіть основне джерело надходження БАР в організм людини.
3. Які біологічно активні речовини Ви знаєте?
4. Назвіть основні функції БАР.
5. Основні характерні властивості БАР.

## **Тема Т2. Класифікація біологічно активних речовин**

Існує загальна класифікація БАР та класифікації в залежності від дії цих речовин на організм, за їх токсичністю, походженням та інше:

### 1. Загальна класифікація.

З метою класифікації усі БАР поділяють

- ендогенні
- екзогенні

### 2. За дією на організм

З урахуванням взаємодії з організмом БАР поділяють на:



- біоінертні, які не засвоюються організмом (целюлоза, геміцелюлоза, лігнін, кремнійорганічні полімери та ін.)

- біосумісні, які повільно розчиняються або ферментуються в організмі (полісахариди, полівінілпіролідон, поліакриламід, полівініловий спирт, поліетиленоксиди, водорозчинні ефіри целюлози та ін.)

- біонесумісні, які викликають ураження тканини організму (поліантрацени деякі поліаміди та багато ін.)

- біоактивні спрямованої дії (вінілін, полімери у поєднанні з лікарськими речовинами).

Біоінертні та біосумісні речовини широко використовуються у виробництві ліків як допоміжні речовини, а також для отримання тари, пакувальних і конструкційних матеріалів тощо.

### 3. За токсичністю.

Залежно від ступеня токсичності БАР поділяють на

- звичайні речовини
- сильнодіючі
- отруйні

Прояв токсичності залежить від концентрації (дозы) БАР, шляхів надходження до організму, чутливості останнього, поведінки БАР в організмі та інших чинників (наприклад, отруйні речовини використовуються як ліки в певних дозах).

### 4. За походженням

БАР бувають

- природні
- синтетичні

### 5. Інші варіанти класифікації

Можливі інші підходи до класифікації БАР, наприклад залежно від природи (рослинного або тваринного походження), розміру часток,

стійкості до температури, можливості накопичуватися в організмі, виявляти наркотичні та інші властивості.

Природні БАР утворюються в процесі життєдіяльності живих організмів. Вони можуть утворюватися в процесі обміну речовин, виділяючись у навколишнє середовище (екзогенні) або накопичуватися усередині організму (ендогенні). Ефективність синтезу БАВ залежить від фізіологічних особливостей живих організмів, екологічних факторів.

До екзогенних природних БАР можна віднести:

коліни - органічні сполуки, які виділяються вищими рослинами через кореневу систему та викликають гноблення нижчих рослин;

фітонциди - леткі органічні сполуки, які виділяються вищими рослинами в атмосферне повітря та викликають загибель патогенних мікроорганізмів;

антибіотики - органічні речовини – продукти життєдіяльності мікроорганізмів у процесі обміну речовин, які виділяються в навколишнє середовище або накопичуються усередині клітини та придушують або пригнічують інші види мікроорганізмів;

маразміни - органічні речовини, які виділяються мікроорганізмами та викликають гноблення нижчих рослин.

Вплив одних живих організмів на інші за рахунок продукування БАР називається аллелопатією.

Мікотоксини - біологічно активні речовини, які продукуються грибами (роду *Fusarium*, *Aspergillus* й ін.) у процесі обміну речовин, що виділяються в організм вищих рослин (злакових) при їхньому спільному розвитку, і спричиняють захворювання останніх. Небезпека мікотоксинів пов'язана з їхньою стійкістю при зберіганні, термічній обробці, здатністю швидко розвиватися в органах і тканинах організму, викликаючи пригнічення синтезу білка, ураження серцево-судинної

системи, клітин кісткового мозку, лімфатичних вузлів. Велика кількість мікотоксинів має канцерогенні властивості.

Запашні речовини (душистые вещества) - органічні речовини, що володіють характерним приємним запахом. Природні запашні речовини представляють складні суміші різних речовин, найчастіше представлені ефірними маслами (рожеве, геранієве, лавандове), екстраговані із квіток рослин.

Запашні речовини використовують для одержання косметичних і парфумерних композицій. Як правило, ці екстракти містять складні суміші різних речовин. Для одержання стійких парфумерних композицій необхідні стабілізатори запаху. До природних стабілізаторів запаху відносяться мускусні препарати.

До ендогенних БАВ можна віднести: білки, жири, вуглеводи, амінокислоти, вітаміни, ферменти, гормони, барвники.

Білки - природні полімери, молекули яких побудовані із залишків амінокислот. По своїй будові білки діляться на прості й складні. Протеїни (від греч. protas - перший, важливий) являють собою прості білки. До них відносяться альбуміни, глобуліни, глютеміни.

Протеїди відносяться до складних білків, які крім білкових макромолекул містять у своєму складі небілкові молекули. До них відносяться нуклепротеїди (крім білка містять нуклеїнові кислоти), ліпопротеїди (крім білка містять ліпіди), фосфоліпіди (крім білка містять фосфорну кислоту). Білки відіграють ключову роль у житті клітини. Вони необхідні для утворення клітин, тканин організму, становлять основу біомембран, а також підтримки життєвих функцій живих організмів. Білки виконують каталітичні (ферменти), регуляторні (гормони), транспортні (гемоглобін, міоглобін), структурні (колаген, фіброїн), рухові (міозин), захисні (імуноглобулін, інтерферон) функції, що дозволяють знизити ризик інфекційних або стресових ситуацій, а

також запасні (казеїн, альбумін), біоенергетичні функції. У свою чергу біологічна активність білків тісно пов'язана з амінокислотним складом. До складу білків входять 20 амінокислот і два аміди (аспаргін, глутамін). Рослини і більшість мікроорганізмів здатні синтезувати всі амінокислоти, які входять в їх склад із простих речовин - вуглекислоти, води й мінеральних солей. В організм тварин і людини деякі амінокислоти не можуть синтезуватися й повинні надходити в готовому виді як компоненти їжі. Такі кислоти називаються незамінними. До них відносяться: валин, лейцин, ізолейцин, лізин, метіонін, треонін, триптофан, фенілаланін. Тривала відсутність в організмі хоча б однієї незамінної амінокислоти приводить до важких захворювань людини й тварин. Всі необхідні амінокислоти повинні міститися в білках у певних співвідношеннях, що відповідають потребам даного організму. Якщо хоча б одна амінокислота міститься в недоліку, то інші амінокислоти, які знаходяться в надлишку, не використовуються для синтезу білків. Біологічно повноцінними вважаються білки, що мають оптимальний зміст амінокислот.

Вітаміни - низькомолекулярні органічні речовини, що володіють високою біологічною активністю й виконують роль біорегуляторів. Біологічна активність вітамінів визначається тим, що вони як активні групи входять до складу каталітичних центрів ферментів або є переносниками функціональних груп. При недоліку цих речовин знижується активність відповідних ферментів й, як наслідок, послабляються або повністю припиняються біохімічні процеси, що відбуваються за участю даних ферментів, що приводить до серйозних захворювань. Організми людини й тварин не здатні до синтезу вітамінів. Основним джерелом їхнього надходження в організм є рослини й мікроорганізми, які синтезують майже всі вітаміни (за винятком В<sub>12</sub>).

Розрізняють жиророзчинні й водорозчинні вітаміни.

Жиророзчинні вітаміни добре розчиняються в органічних розчинниках. До них відносяться вітаміни груп А, Д, Е, Ф. Найбільшою біологічною активністю володіють незамінні жирні кислоти - вітаміни групи F (лінолева, ліноленова, олеїнова, стеаринова, пальмітоолеїнова, пальмітинова, арахідонова). Незамінні жирні кислоти беруть участь у процесі засвоєння жирів і жировому обміні шкірних покривів. При недоліку незамінних жирних кислот знижується інтенсивність росту, гнітиться репродуктивна функція, знижується опір організму інфекції.

Водорозчинні вітаміни добре розчинні у воді. До них відносяться вітаміни груп С, В, Д.

Ліпіди - це складна суміш органічних сполук із близькими фізико-хімічними властивостями, які беруть участь у побудові клітинних мембран. Є обов'язковим компонентом клітини.

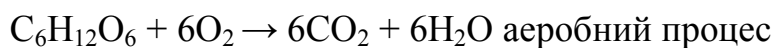
У рослинах жири накопичуються в плодах і насіннях, у тваринах і рибах - концентруються в підшкірних жирових тканинах, черевній порожнині й тканинах, що оточують багато важливих органів (серце, нирки), а також у мозковій і нервовій тканинах. Тривала відсутність їх у живому організмі приводить до порушення центральної нервової системи, знижується стійкість до інфекцій, скорочується тривалість життя.

Ферменти (лат. fermentum - закваска), або ензими (enzyme - дріжджі) - біокаталізатори білкової природи, що прискорюють обмін речовин у клітинах. Розрізняють однокомпонентні (мономірні) ферменти, що складаються тільки з білка, і двокомпонентні, що складаються з білкових макромолекул і небілкових молекул. Активність ферменту визначається структурою білкової частини. Ферменти використовуються в різних галузях практичної діяльності людини як біологічні каталізатори. Основним постачальником ферментів довгий

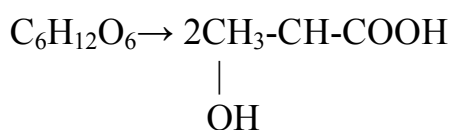
час були гриби. У цей час усе більше широкое застосування знаходять ферменти бактерій.

Вуглеводи утворюються в рослинах у пластидах у процесі фотосинтезу під дією квантів сонячної енергії з вуглекислого газу, води, мінеральних солей завдяки асиміляції хлорофілу. За хімічною будовою вуглеводи поділяються на моносахариди й полісахариди.

Найбільшою біологічною активністю володіють моносахариди, які є сильними відновником. У природних умовах моносахариди в присутності ферментів розпадаються до вуглекислого газу, води або спирту (подих). При цьому виділяється велика кількість тепла:



При молочно-кислому бродінні вуглеводи розпадаються до молочної кислоти:



У кислому середовищі при нагріванні моносахариди гублять три молекули води, утворюючи летючу речовину фурфурол. Гексози гідролізуються до оксиметилцелюлози.

Вуглеводи виконують пластичні функції (входять до складу тканин і рідин), захисні (гепаринів запобігає згортання крові в судинах). При тривалій відсутності вуглеводу глюкози в крові відбувається порушення поведінки, марення, втрата свідомості, структурні зміни в мозку й в остаточному підсумку може наступити смерть.

Полісахариди (крохмаль, клітковина, пектинові речовини) відносяться до так називаних баластових речовин. Вони прискорюють процес виведення з організму токсичних продуктів.

Найбільшою біологічною активністю володіють похідні моносахаридів - глікозиди, молекули складаються із залишків моносахаридів і спиртів, ароматичних з'єднань, стероїдів.

Фітогормони - речовини, які синтезуються в рослинах у процесі обміну речовин, транспортуються по них і здатні викликати ростові або формативні ефекти (деформації), так називані регулятори росту й розвитку рослин, або фіторегулятори. Фітогормони відіграють важливу роль у реалізації спадкоємної програми й адаптації до мінливих умов середовища, відповідають за формування й розвиток стебла, листів й кореня, прискорюючи диференціювання клітин, клітинні поділи, утворення нових тканин й органів, темпи росту й розвитку рослин, їх продуктивність й якість урожаю. Гормональні ефекти реалізуються шляхом конфірмаційних змін білкових молекул (варіювання форми й просторової структури) за рахунок утворення гормоно-рецепторного активного комплексу. Такі білки можуть функціонувати як рецептори фітогормонів, виконуючи роль перетворювача сигналу між рецептором і певною ферментативною системою. Більшість фітогормонів утворюється з органічних кислот, зокрема амінокислот.

Біологічні особливості транспортування фітогормонів полягають у тім, що, утворившись в одному органі (наприклад, в апікальній меристемі стебла), вони повинні регулювати ріст в іншому органі (корені). Прискорення або вповільнення росту починає проявлятися при концентрації  $10^{-13}$ - $10^{-7}$  М. За фізіологічною дією фітогормони підрозділяють на ауксини, цитокініни, гібберелліни, абсцизову кислоту, етилен, брассиностероїди. Фітогормональними властивостями володіють деякі органічні кислоти (жасмінова, саліцилова), олігосахариди, поліаміни, фенольні з'єднання.

Ауксини мають хімічну будову природного ауксину індолил-3-оцтової кислоти (ІОК). Утворюються з амінокислоти триптофану.

Фізіологічні ефекти пов'язані з його дією на клітинному рівні, що проявляються в регуляції розтягання, розподілу й диференціювання, зміні положення різних органів рослин (тропізм), що обумовлено різною швидкістю розтягання клітин латеральних сторін осьових органів через неоднаковий зміст у них ауксину. Під дією ауксину відзначається формування провідних флоемних і ксилемних елементів у каллюсній тканини.

Цитокініни стимулюють розподіл клітин, затримують старіння листів, регулюють формування хлоропластів на ранніх стадіях розвитку листка, а також ріст і розподіл клітин листка за рахунок стимулювання синтезу хлоропластних РНК і білків, що беруть участь у регуляції транспірації листів, відкриваючи устячка й тим самим підвищують стійкість клітин рослини до різних несприятливих екологічних факторів (температурі, недоліку води, підвищеної засоленості, впливу фітонцидів, рентгенівському випромінюванню). До природних цитокінінів відноситься хімічна речовина зеатин, яка виділена з незрілих насіннь кукурудзи.

Гібберелліни - продуценти мікроміцетів патогенного гриба *Gibberella fujicuroi*, що викликають надмірний вегетативний ріст рису. Присутні в багатьох видах рослин. Являють собою терпиноїди. Синтезуються в рослині з мевалонової кислоти. Дефіцит гіббереллінів може привести до карликовості рослин за рахунок порушення ферментативного процесу біосинтезу цих фітогормонів.

Етилен - газоподібний фітогормон, стимулює обпадання листів і порушує фототропізм проростків гороху, утримується в газоподібних виділеннях яблук, що зберігаються. Синтезується в рослинах з амінокислоти метіоніну. Цей фітогормон відноситься до екзогенних БАР.



Абсцизова кислота - інгібітор, що блокує процеси росту, стимулюємі ауксинами, цитокінінами, гіббереллінами.

Брассиностероїди відносяться до маловивчених фітогормонів. За фізіологічною дією близькі до дії інших фітогормонів. Специфічна дія пов'язане з регуляцією росту сім'ябруньки.

Гормони рослин впливають на синтез, розпад і транспорт один одного. Зміна рівня одного з компонентів фітогормональної системи приводить до зміни всієї системи. Знання механізмів фітогормональної регуляції важливо при керуванні розвитком рослин.

Пестициди - це отрутні органічні й неорганічні хімічні сполуки, токсичні для живих організмів.

Отрути - речовини, які при надходженні в організм різними шляхами (через дихальні органи, шкіру, травний тракт) у незначних кількостях здатні викликати порушення його життєдіяльності, що переходить за певних умов у хвороботворний стан, отруєння.

По впливі на живі організми пестициди діляться на інсектициди (згубно діють на шкідливих комах), гербіциди (згубно діють на бур'янисті рослини), фунгіциди (згубно діють на фітопатогенні гриби).

Біологічна активність пестицидних препаратів визначається фізико-хімічними властивостями діючої хімічної речовини: структурою, реакційною здатністю, летючістю, розчинністю у воді, ліпідах.

Інсектицидною дією володіють багато хімічних сполук, виділених з рослин: алкалоїди (нікотин, анабазин, фізостигмін); піретрини (із квіток далматської ромашки), ротенон.

Лікарські препарати є біологічно активними речовинами ендо- або екзогенної природи, законодавчо дозволені для профілактики й лікування захворювань людини. Ці речовини при певних концентраціях повинні робити чітко виражені бактерицидну, антисептичну, наркотичну, дезінфікуючу й інші дії. Терапевтичний ефект лікарських

препаратів визначається дозою. При певних дозах лікарські препарати можуть привести до отруєння або смерті. Терапевтичну дію роблять і БАР, що утворюються в організмі рослин, тварин і людини (алкалоїди, гормони, вітаміни, антибіотики).

*Контрольні питання до теми Т2:*

1. На які групи можна поділити БАР з урахуванням їх взаємодії з організмом?
2. На які групи поділяють БАР залежно від ступеня їх токсичності?
3. На які групи поділяють БАР залежно від походження?
4. Які БАР можна віднести до ендогенних, а які до екзогенних?

### **Тема Т3. Загальні закономірності синтезу БАР**

У промисловому масштабі найбільше значення мають хімічний і мікробіологічний методи синтезу БАР.

#### **3.1 Хімічний метод синтезу БАР**

Хімічний метод синтезу БАР має назву тонкого органічного синтезу, відмінними рисами якого є: багатостадійність одержання речовин; необхідність ретельного очищення; невеликі обсяги виробництва; великі асортименти; висока вартість продуктів синтезу.

В основу вибору способу синтезу БАР повинні бути покладені знання про механізм хімічних реакцій, властивостях хімічних попередників, які використовуються для синтезу, відомості про раціональні методи їхнього одержання й очищення.

Зазвичай в кожному синтезі можна виділити чотири частини:

- 1) вибір джерел сировини (з'єднань - попередників);
- 2) розробка хімічної схеми синтезу БАР;
- 3) вибір методу очищення цільового з'єднання;

#### 4) ідентифікація БАР.

Методи, які використовуються в тонкому органічному синтезі, забезпечують одержання складних органічних сполук з більше простих попередників. Для промислового виробництва продуктів тонкого органічного синтезу дуже важливо знайти найбільш зручний, безпечний і дешевий спосіб одержання таких попередників.

Вибір джерел сировини. Правильний вибір є одним з визначальних моментів у синтезі. Найбільш важливими джерелами сировини є продукти первинної переробки вугілля, нафти й природного газу. Так, при хімічній переробці вугілля одержують ароматичні вуглеводні (бензол, толуол, ксилол, нафталін) і газоподібні оксиди вуглецю. При крекінгу й реформінгу нафти одержують аліфатичні, ациклічні, ароматичні й гетероциклічні вуглеводні, із природного газу - метан, етан, пропан, бутан, пентан, гексан, вищі парафіни. Подальші перетворення первинних продуктів вугле-, нефто- і газопереробки приводять до таких речовин, як спирти, феноли, альдегіди, кетони, кислоти.

Для виробництва мінеральної сировини використовують переважно рудні копалини. Мінеральну сировину застосовують для виробництва неорганічних солей (KI, KMnO<sub>4</sub>). Для одержання БАР використовуються також рослинні й тваринні матеріали.

Дуже важливий внесок у сировинну базу внесло виробництво синтез-газу, з якого одержують метанол, вищі вуглеводні (синтез Фишера- Тропша). З монооксиду вуглецю одержують фосген, мурашину кислоту, з метану - циановодневу кислоту, сірковуглець і хлорпохідні.

Більше складні вихідні з'єднання одержують переробкою сільськогосподарської, лісохімічної й мікробіологічної сировини (жири, олії, крохмаль, білки й т.д. ). Доступність і вартість того самого виду сировини може мінятися із часом внаслідок різних причин, тому при

розробці нових синтезів важливо враховувати прогнози по виробництву з'єднань-попередників.

Розробка хімічної схеми синтезу. Найбільш складним є створення хімічної схеми одержання речовини. Зазвичай починають із розгляду структури цільового з'єднання й аналізу відомих хімічних реакцій, які можуть привести до нього виходячи з більш простих з'єднань-попередників. При цьому можливі два принципово відмінні одна від одної ситуації. Якщо метод синтезу цільового з'єднання невідомий, у цьому випадку основне завдання полягає в підборі хімічної реакції або сполучення декількох хімічних реакцій, які можуть привести до даного з'єднання. Якщо ж можливі кілька схем синтезу, то завдання зводиться до вибору найбільш раціонального шляху. Природно, що в першому випадку завдання більше важке й синтез не завжди закінчується успішно.

Для одержання БАР хімічним способом використовують наступні методи проведення хімічних реакцій:

- перетворення наявних у молекулі заступників (реакції окислювання, відновлення, конденсації);
- введення нових заступників (реакції галогенування, сульфування, нітрування, нітרוзування, алкілювання й ацилювання);
- елюмінування заступників для утворення ненасичених зв'язків;
- циклізація шляхом розкриття ненасичених зв'язків або проведенням реакції з виділенням води, спирту, вуглеводнів й ін;
- перегрупування дозволяють одержувати з'єднання з певним розташуванням заступників шляхом зменшення числа вуглеводневих атомів у молекулі або шляхом нарощування числа вуглеводневого ланцюга;

- проведення регіо- або енантіоселективних реакцій пов'язане зі спрямованим впливом на певні реакційні центри шляхом підбора реагентів, умов реакції або зміною механізму реакції.

Вибір методу очищення цільового з'єднання залежить від агрегатного стану отриманих цільових з'єднань, які можуть містити домішки, що знижують якість отриманого продукту. Для рідких з'єднань очищення проводять шляхом перегонки, ректифікації, молекулярній дистиляції. Кристалічні з'єднання піддають кристалізації з розчинників. Для більш ретельного очищення використовують хроматографічні методи (іонообмінні, на твердих адсорбентах).

Ідентифікація цільового продукту проводять для оцінки його якості. Із цією метою спочатку визначають фізико-хімічні константи (температуру кипіння, температуру плавлення, показник переломлення, щільність і т.ін.), а потім підтверджують структуру цільового з'єднання спектральними методами (УФ-, ІК-, ЯМР), мас-спектроскопією, рентгеноструктурним аналізом.

### **3.2 Мікробіологічний метод синтезу (біосинтез)**

В основі технології біосинтезу БАР головними компонентами є біооб'єкти: вірус, гриб, рослинні або тваринні клітини, біомолекули, що володіють різними фізіологічними властивостями.

Основне завдання технології біосинтезу БАР – перетворення природної сировини або відходів за допомогою біологічного об'єкта (мікроорганізмів, ізольованих клітин, ферментів, клітинних органел), підтримка й активізація шляхів обміну клітин, що ведуть до нагромадження БАР у цільовому продукті при помітному придушенні інших реакцій обміну в організмі, що культивується, а також одержання клітин або їхніх складових частин (переважно ферментів) для спрямованої зміни складних молекул.

Принципи мікробіологічного синтезу БАР ґрунтуються на тому, що біооб'єкти відносяться до надцарств живих істот (акаріот, прокаріот, еукаріот); функціональної активності біооб'єкта (біосинтез, біотрансформація); можливості вичленовування окремих етапів з біотехнологічних схем виробництва у вигляді самостійних процесів (підготовка поживних середовищ і устаткування, ферментація, стерилізація середовищ й устаткування).

Переваги мікробіотехнології: простота організації генома; легке пристосування (лабільність) до середовища перебування в природних і штучних умовах; досить високі швидкості протікання ферментативних реакцій при низьких температурах (20-60°C) і наростання клітинної маси; можливість використання недефіцитної, дешевої сировини (відходи промисловості, стічні води).

До недоліків технології мікробного синтезу БАР можна віднести: багатоконпонентність поживних середовищ; необхідність стерилізації поживних середовищ устаткування й комунікацій для видалення або руйнування контамінантів при збереженні якості середовища, а також труднощі в керуванні процесом біосинтезу й автоматизації. Це пов'язане із процесами саморегуляції біооб'єктів (включаючи здатність до мутації), які можуть привести до непередбаченої зміни біотехнологічного процесу. При розмноженні й розвитку відбувається постійна зміна окремих параметрів, і в кожен момент часу клітини функціонують в інших умовах. У зв'язку із цим при керуванні технологічним процесом біосинтезу БАР варто враховувати індивідуальні особливості "поведінкових реакцій" біооб'єкта в конкретних умовах культивування, а саме: чутливість біооб'єктів до впливу фізико-механічних факторів при перемішуванні, а також знання хімічної природи синтезованого БАР, характеру біохімічних процесів,

здійснюваних біооб'єктами, специфіку спадкоємних властивостей даного виду.

Для нормального росту, розмноження біооб'єкта в процесі біосинтезу БАР необхідно підтримувати оптимальні умови його культивування. При порушенні оптимальних умов порушується обмін речовин, припиняється або обмежується ріст і розмноження культури, знижується вихід й якість цільового продукту.

Параметри контролю процесу культивування, що відносяться до основних технологічних показників біосинтезу БАР:

- температура;
- рН- середовища;
- кількість біомаси клітин;
- швидкість споживання джерел харчування;
- кількість розчиненого кисню (у випадку аеробних біооб'єктів);
- кількість метаболіту, що утвориться.

Основні технологічні стадії мікробіологічного синтезу БАР: предферментація (підготовчі роботи) та ферментація (нагромадження й виділення цільового продукту).

Предферментація включає підготовчі стадії до біосинтезу: 1) готування й підготовка середовища; 2) одержання й підготовка посівного матеріалу; 3) вибір і підготовка устаткування.

*Контрольні питання до теми ТЗ:*

1. Якими методами синтезу у промисловому масштабі можна одержувати БАР?
2. Які стадії можна виділити при синтезі БАР?
3. Які головні компоненти використовують в основі технології біосинтезу БАР?
4. Яке основне завдання технології біосинтезу БАР?
5. Переваги мікробіологічного синтезу виробництва БАР?

## Розділ II. Технології виробництва органічних кислот

Незважаючи на значний прогрес в області органічного синтезу багато кислот (лимонна, молочна, ітаконова, оцтова й ін.) одержують у цей час мікробіологічним синтезом. Органічні кислоти знаходять широке застосування у фармацевтичній, хімічній, текстильній й іншій галузях промисловості. Харчова промисловість традиційно основний споживач лимонної, оцтової й молочної кислот. Зважають, що продукти природного бродіння більше кращі, ніж синтетичні кислоти, тому що присутні в них сліди різних домішок можуть бути нешкідливі для організму.

### Тема Т4. Технологія виробництва лимонної кислоти

Лимонна кислота  $\text{CH}_2\text{COOH}-\text{COHCOOH}-\text{CH}_2\text{COOH}$  є трохосновною оксикислотою, що кристалізується з водяних розчинів з однією молекулою води у вигляді безбарвних, прозорих ромбічної форми кристалів.

Моногідратна форма лимонної кислоти має молекулярну масу 210, щільність 1,54 і температуру плавлення 70- 75 °С. При зберіганні й особливо швидко при нагріванні до 40-50°С втрачається кристалізаційна вода, при температурі 100 °С кристалізаційна вода губиться повністю.

Лимонна кислота широко поширена в плодах й ягодах. Вона знаходить застосування в ряді галузей харчової промисловості (виробництво кондитерських виробів і напоїв), хімічної й текстильної промисловості (фарбування тканин, готування світлочутливих фотоемульсій), медицині й т.д..

Світове виробництво лимонної кислоти в цей час становить близько 130 тис. т у рік. При культивуванні лимонної кислоти на



вуглеводах в якості продуцентів використовують мутантні штами *Asp. niger*, на н-парафинах - дріжджі *Candida lipolitica*, *Candida guilliermondii*, *Candida oleophila* і бактеріальні штами з роду *Corynebacterium*, *Arthrobacter*.

Виробництво лимонної кислоти включає наступні основні технологічні стадії: одержання посівного матеріалу, підготовку меляси до зброджування, зброджування розчинів меляси в лимонну кислоту з наступним відділенням міцелію, виділення зі зброджених розчинів лимонної кислоти й одержання її в кристалічному виді.

Хімізм утворення лимонної кислоти. Синтез лимонної кислоти пов'язаний із циклом дикарбонових кислот і відбувається в результаті конденсації якої-небудь кислоти, що містить чотири атоми вуглецю й дві карбоксильні групи, з кислотою, що має два атоми вуглецю й одну карбоксильну групу. У результаті гліколізу глюкози утворюється піровиноградна кислота. На наступному етапі відбувається ферментативне зв'язування піровиноградної кислоти з діоксидом вуглецю. Щавелевооцтова кислота, що утворилася вступає далі в реакцію з оцтовою кислотою й утворюється лимонна кислота. Таким чином, хімізм утворення лимонної кислоти включає реакції гліколізу й ряд реакцій, замкнутих у цикл Кребса. При кожному обороті цього циклу молекула щавелевооцтової кислоти вступає у взаємодію з молекулою оцтової кислоти, утворюючи лимонну кислоту.

Одержання посівного матеріалу. Для виробництва лимонної кислоти поверхневим і глибинним способами використовують отселекціоновані штами *Asp. niger*. Вихідні культури зберігають у вигляді сухих спор (конідій) у суміші з активним вугіллям. Ретельно перевірена на мікробіологічну чистоту й біохімічну активність музейна культура використовується для приготування посівного матеріалу. Посівний матеріал розмножують у пробірках з агаризованим

середовищем (сусло-агар, середовище Журавського й ін.), а потім у колбах і кюветах - на твердому поживному середовищі. Тривалість кожної стадії 2-7 доби, оптимальна температура вирощування 32 °С. У процесі вирощування на поверхні твердого середовища розвивається щільна міцеліальна плівка, що потім покривається конідіями. На останній стадії (з кювет) зрілі конідії збирають за допомогою спеціального вакуумного пристрою. Для подовження строку зберігання конідії підсушують при 32 °С, змішуючи зі стерильним наповнювачем - активним вугіллям або тальком у співвідношенні 1:2. Оброблені таким чином конідії можна зберігати 1-2 роки. З 10 дм<sup>2</sup> площі кювет одержують 3-4 г сухих конідій (площа однієї кювети 8,5дм<sup>2</sup>). Готовий посівний матеріал фасують у стерильні скляні колби або банки місткістю від 0,5 до 1 л. Посівний матеріал зберігається при кімнатній температурі й відносній вологості повітря 70 %. Гарантований строк придатності конідій не менш 6 міс від дня випуску.

Підготовка меляси до зброджування. Багато органічних речовин, головним чином цукри, зброджуються з утворенням лимонної кислоти. Високий вихід одержують зазвичай, якщо використовують, як джерело вуглецю глюкозу, фруктозу, сахарозу, мальтозу. Для промислового виробництва лимонної кислоти, як субстрат застосовують, зазвичай, мелясу - відхід цукрового виробництва.

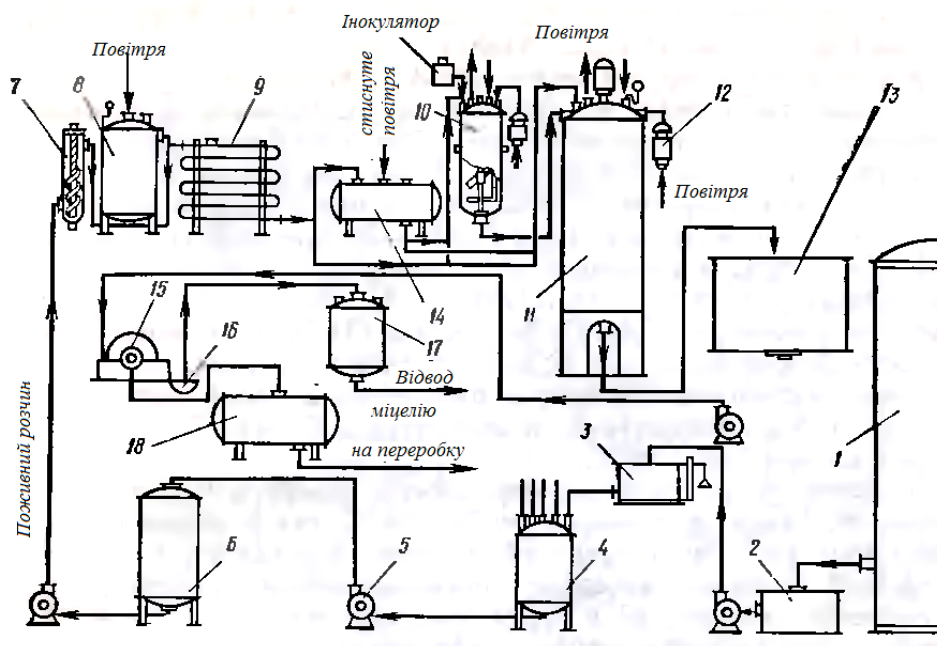
Меляса - нестандартна сировина, її хімічний склад залежить від якості цукрового буряка, технології переробки й умов зберігання. Придатність меляси для виробництва лимонної кислоти визначають на основі попередніх біохімічних випробувань. Розчини меляси зброджують поверхневою й глибинною культурою відповідного штаму гриба *Asp. niger*. Меляса вважається придатною для виробництва лимонної кислоти поверхневим способом, якщо знімання лимонної

кислоти при контрольному зброджуванні становить не менш 1,25 кг/(м<sup>2</sup>·доб), глибинним способом-10- 12 кг/(м<sup>3</sup>·доб).

Добре зброджуєма меляса містить не більше 1,0 % інвертного цукру, 1 % СаО, 0,06 % SO<sub>2</sub> при загальному змісті сухих речовин не менш 75 % і цукру більше 46 %. Залежно від способу зброджування мелясу розбавляють і готовлять розчини з різною концентрацією цукру: для поверхневого вирощування *Asp. niger* до 13-15%, для глибинного культивування - 3-4% й 25-28%. У приготовлених розчинах сірчаною кислотою доводять рН до 6,8-7,5. Неопрацьована меляса погано асимілюється й зброджується мікроорганізмом-продуцентом, тому що поряд з речовинами, необхідними для нормального росту гриба й активного кислотоутворення, у ній містяться мінеральні й органічні домішки, що гальмують ріст гриба й пригнічують процес утворення лимонної кислоти. Це іони важких металів, у першу чергу заліза.

Меляса, не єдине джерело сировини для одержання лимонної кислоти. За останні роки в різних країнах світу запатентовані способи одержання лимонної кислоти шляхом культивування мікроорганізмів, в основному дріжджів роду *Candida*, на середовищах, що містять як джерело вуглецю н-парафіны, гліцерин, етанол, кислоти оцтовий, масляну, тваринні або рослинний жири.

Глибинний спосіб. При глибинному способі зброджування мелясних розчинів процес ведуть у ферментаторах ємністю 50 м<sup>3</sup>, разове завантаження - 38 м<sup>3</sup> (рис. 4.1). Конідії пророщують у посівних апаратах місткістю 5 м<sup>3</sup> з робочим обсягом 3 м<sup>3</sup>.



1 - бак з мелясою; 2 - прийомний бак; 3 - ваги; 4 - варочний казан; 5 - відцентровий насос; 6 - проміжна ємність; 7 - стерилізаційна колона; 8 - витримувач; 9 - холодильник; 10 - посівний ферментатор; 11 - виробничий ферментатор; 12 - протибактеріальні фільтри; 13 - проміжний збірник; 14 - ємність для зберігання меляси; 15 - барабанний вакуум-фільтр; 16 - приймач міцелію; 17 - вакуум-збірник для міцелію; 18 - вакуум-збірник фільтрованого (зброженого) розчину

Рисунок 4.1 – Технологічна схема одержання лимонної кислоти глибинним способом

Розчин меляси, що містить 3-4 % цукру, для посівних апаратів готують у варочному казані. Мелясу розбавляють киплячою водою, встановлюють рН 7,0-7,2. Для видалення заліза при кип'ятінні додають жовту кров'яну сіль. Розчини хлориду амонію й сульфату магнію вводять у регламентованих кількостях. Підготовлений розчин стерилізують при 128-130°C протягом 12-15 хв. У розчин меляси, охолоджений у посівному апараті до 35-36 °С, додають стерильні розчини  $K_2HPO_4$  й  $MgO_{4-7}H_2O$ . Для виробничого ферментатора розчин меляси готують у тій же послідовності. Розчини поживних солей готують окремо й стерилізують при температурі 123-125 °С. Воду стерилізують при 128-130 °С.

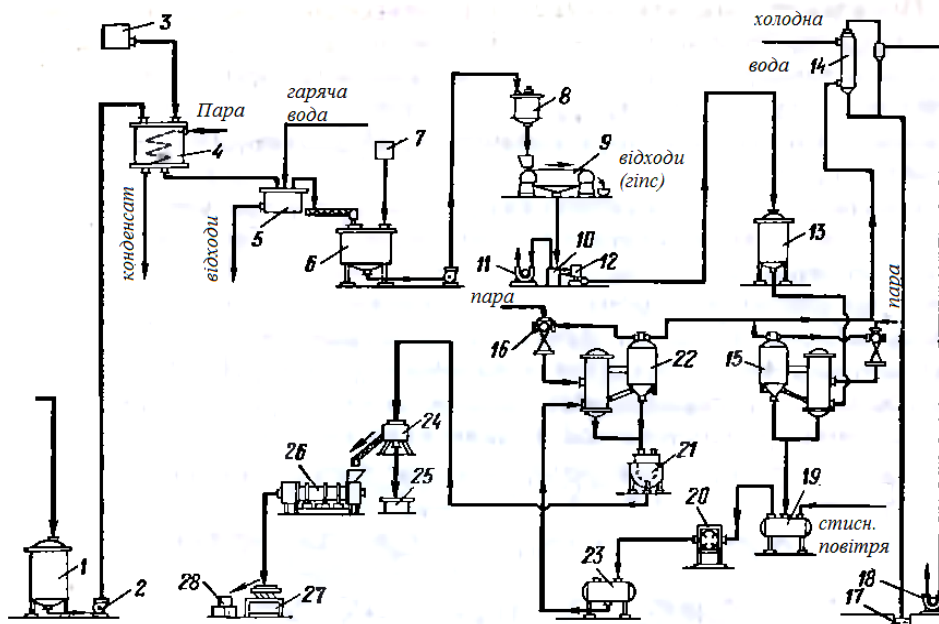
Підливний розчин повинен мати 25-28 %-у концентрацію за цукром й температуру 34-36 °С, як й основний зброджуємий розчин. Підливний розчин направляють у збірник. Посівний апарат засівають попередньо підготовленою суспензією конідій (3 г сухих конідій замочують в 2-3 л стерильного розчину меляси або поживного середовища). Культуру вирощують при 34-35 °С при постійному перемішуванні, дробовій аерації й надлишковому тиску в апарату 10- 20 кПа.

У період інтенсивного вспінювання середовища (12-24 год) невеликими порціями подають піногасник (олеїнова кислота). Процес підрощування міцелію закінчується до 30-36 год. Загальна титруема кислотність культуральної рідини становить 1,0-2,0 %. Підрощений міцелій передають для засіву середовища виробничого ферментатора.

Процес кислотоутворення триває 5-7 діб при температурі 31-32 °С, безперервному перемішуванні й дробній аерації.

Починаючи з 2-ої доби після посіву в міру зниження концентрації цукру в розчині проводять 2-3 підживлення. Дробове введення підливного 25-28 %-вого розчину зазвичай проводять із розрахунку доведення кінцевої концентрації цукру в збродженому розчині до 12-15%. Контроль за наростанням титруємої кислотності й витратою цукру дозволяє вчасно визначити кінець процесу й одержати найбільшого знімання лимонної кислоти з 1 м<sup>3</sup> ферментатора в добу (не нижче 7,5 кг/м<sup>3</sup>). Після закінчення процесу зброджений розчин нагрівають гострою парою до 60-65 °С и зливають у збірник, звідки його подають на вакуум-фільтр для відділення й промивання міцелію гарячою водою. Відділений і промитий міцелій направляється на корм худобі. Основний розчин лимонної кислоти разом із промивними водами передається в хімічний цех.

При глибинному способі зброджування основні розчини містять від 5 до 12 % органічних кислот, 0,2- 1,5 % цукру, а лимонна кислота становить 80-98 % від суми всіх кислот. Схема виділення лимонної кислоти зі зброджених розчинів представлена на рис. 4.2.



1- збірник зброджених розчинів; 2- насос; 3- збірник вапняного молока; 4- нейтралізатор; 5 - нутч-фільтр для відділення цитрату кальцію; 6 - реактор; 7 - бачок-мірник сірчаної кислоти; 8 - проміжний збірник; 9 - стрічковий вакуум- фільтр для відділення гіпсу; 10- вакуум-збірник; 11- вакуум-насос; 12- насос; 13 - збірник розчину лимонної кислоти; 14 - барометричний конденсатор з ловушкою; 15- вакуум-апарат першої упорки; 16-пароструминний компресор; 17 - барометричний ящик; 18 - вакуум-насос; 19 - монтежу; 20 - фільтр-прес; 21 - кристалізатор; 22 - вакуум-апарат другий упорки; 23 - проміжний збірник; 24-центрифуга; 25 -збірник маточного розчину; 26 - барабанна сушарка; 27 - трясосито; 28 - упакована лимонна кислота

Рисунок 4.2 – Технологічна схема хімічного цеху виробництва лимонної кислоти

Одержання цитрату кальцію. Зброжені розчини являють собою суміш лимонної, глюконової і щавлевої кислот, незбродженого цукру й мінеральних домішок. Лимонну кислоту з розчину виділяють шляхом зв'язування її катіонами кальцію з утворенням слабозчинної солі цитрату кальцію.

Нейтралізацію здійснюють у нейтралізаторах, оснащених мішалками й паровими барботерами. Зброджений розчин нагрівають у нейтралізаторі до кипіння, після чого в нього при безперервному перемішуванні вводять вапняне або крейдове молоко. Повноту нейтралізації визначають за допомогою індикатора. Вона вважається закінченою при рН 6,8-7,5. При нейтралізації зі збродженого розчину утворюються кальцієві солі лимонної, глюконової і щавлевої кислот.

Кальцієві солі лимонної й щавлевої кислот випадають при цьому в осад, а кальцієва сіль глюконової кислоти й основна частина органічних і мінеральних речовин меляси залишаються в розчині. Для відділення осаду, що утворився, гарячу реакційну масу передають на вакуум-фільтри. Після відділення маточного розчину осад на фільтрі промивають гарячою водою (температура близько 95 °С). Про закінчення промивання судять по відсутності в промивних водах цукру. Для підсушування через осад протягом деякого часу пропускають повітря.

Перевод лимонної кислоти у вільний стан і відділення її від оксалату кальцію досягається обробкою осаду сірчаною кислотою з наступним фільтруванням. Розкладання цитрату кальцію здійснюють у реакторі, оснащеному мішалкою й паровим барботером. У реактор подають воду з розрахунку 0,25-0,5 м<sup>3</sup> на 1 т лимонної кислоти й при працюючій мішалці завантажують туди цитрат кальцію з таким розрахунком, щоб після його розкладання концентрація лимонної кислоти в розчині була не менше 25 % . У якості освітлювача в реактор вводять активне вугілля (2 % до маси лимонної кислоти), вміст реактора нагрівають до 60 °С и при перемішуванні подають із мірника сірчану кислоту (щільність 1,80-1,84) з розрахунку 0,425 л на 1 кг лимонної кислоти в цитраті. Суміш кип'ятять протягом 10-20 хв.

Після повного розкладання цитрату кальцію (контролюють по відсутності в середовищі цитрату кальцію й сірчаної кислоти) у реактор вводять гранульований сірчистий барій (з розрахунку 0,10-0,15 кг на 100 кг лимонної кислоти) для осадження важких металів. Для відділення розчину лимонної кислоти від осаду, що містить гіпс, оксалат кальцію, вугілля, сірчисті з'єднання важких металів і берлінську лазур, гарячу реакційну суміш направляють із реактора на вакуум-фільтр. Відфільтрований розчин передають на додаткове розпарювання, а осад на фільтрі промивають гарячою водою (90 °С). Промивання осаду припиняють при вмісті лимонної кислоти в промивній воді 0,1 %. Середня концентрація розчину лимонної кислоти (разом із промивними водами) повинна бути не нижче 16 %.

Розпарювання розчину лимонної кислоти. Розпарювання здійснюють у вакуум-апаратах і проводять у дві стадії із проміжним звільненням розчину від осаду гіпсу. У першому апараті розчин упарюють до щільності 1,24-1,26 (під залишковим тиском 0,021 мПа), осад відокремлюють на фільтр-пресі. У другому апараті прозорий розчин упарюють (під залишковим тиском 0,021 мПа) до щільності 1,35-1,36, що відповідає концентрації лимонної кислоти 80 % (близько 1070 г моногідрату в 1 л).

Кристалізація й сушка лимонної кислоти. З вакуум- апарата вдруге упарений розчин температурою 70 °С передають на кристалізацію.

Після заповнення кристалізатора розчин охолоджують до 35-37°С и вносять у нього затравку - кристали лимонної кислоти. Кристалізацію проводять при безперервному перемішуванні й повільному охолодженні до температури 8-10 °С. При кінцевій температурі кристалізації розчин витримують не менш 30-45 хв. Кристали відокремлюють у центрифугі, промивають їх невеликою кількістю холодної води, потім кристали вологістю 2-3 % передають на сушку.



Сушку проводять у стрічковій або барабанній пневматичній сушарках при температурі повітря не більше 35 °С. При більше високій температурі відбувається руйнування кристалів внаслідок втрати ними кристалізаційної води. У товарному продукті повинне міститися не менш 99,5 % лимонної кислоти (у перерахуванні на моногідрат), зольність не більше 0,1 % для вищого сорту й 0,35 % для 1 сорту.

*Контрольні питання до теми Т4:*

- 1. Назвіть галузь застосування лимонної кислоти.*
- 2. Назвіть основні технологічні стадії виробництва лимонної кислоти.*
- 3. В чому полягає хімізм утворення лимонної кислоти?*
- 4. В чому полягають відмінності при виробництві лимонної кислоти поверхневим та глибинним способом?*

### **Тема Т5. Технологія виробництва молочної кислоти**

Молекула молочної кислоти ( $C_3H_6O_3$ ) при кімнатній температурі являється твердою речовиною, яка за атмосферного тиску плавиться, утворюючи сиропоподібну рідину. Молекула молочної кислоти існує у вигляді двох оптичних ізомерів: L-молочної кислоти (від латинського “*livo*” — лівий) та D-молочної кислоти (від латинського “*dextro*” - правий). Кожна із цих форм являється дзеркальним (хіральним) відображенням іншої. D-молочна кислота утворюється при дії бактерій на м'ясний екстракт, а L-молочну кислоту отримують збродженням цукрози в присутності *Bacillus acidi levolaktiti*. Суміш обох форм молочної кислоти можна виділити із кислого молока.

Молочна кислота — це одноосновна кислота. В кристалічному вигляді ця кислота може бути отримана при обережному випарюванні водного розчину молочної кислоти. Водні розчини молочної кислоти

являються врівноваженою системою, яка складається з молочної кислоти та її ангідридів; чим більша концентрація водного розчину, тим більше в ньому ангідридів молочної кислоти. Але ангідриди — це менш цінні сполуки ніж сама молочна кислота. На харчові підприємства, як правило, молочна кислота надходить у вигляді розчинів, що мають концентрацію 40—80 % (I, II та III гатунку). Молочна кислота III гатунку використовується лише для інверсії цукрів. При зберіганні молочної кислоти, як і інших органічних кислот, може відбуватися втрата кристалізаційної води, що спричиняє утрату товарної маси.

Молочна кислота широко поширена в природі. Порівнюючи молекулярні формули молочної кислоти  $C_3H_6O_3$ , та глюкози  $C_6H_{12}O_6$ , неважко зрозуміти причину її розповсюдженості - молекула молочної кислоти, по суті, є не чим іншим, як половиною молекули глюкози. Дійсно, поширеним джерелом молочної кислоти являються процеси анаеробної ферментації цукрів та дії ферментів на системи, що містять глюкозу. Свіже молоко швидко заселяється бактеріями, що діють на молочний цукор — лактозу; бактерії забезпечують себе енергією, розщеплюючи лактозу та виділяючи молочну кислоту. Потім, під впливом кислоти краплі жиру в молоці коалесцирують і молоко звертається. Під час приготування йогурту процес прискорюють та регулюють, додаючи до молока змішану культуру бактерій *Lactobacillus bulgaricus* та *Streptococcus thermophilus*, які утворюють молочну кислоту.

Молочна кислота також утворюється із глюкози під дією ферментів, що містяться в пітних залозах людини (тому піт і має кислий смак). Крім того, молочна кислота накопичується у м'язах, якщо вони вичерпали весь свій запас кисню і не здатні метаболізувати глюкозу аеробним шляхом. Тому спринтер може несвідомо використовувати анаеробне джерело енергії, яке слугувало ще його далеким предкам, і

таким чином забезпечити себе енергією, яка вивільнюється при розрізанні молекул глюкози на дві молекули молочної кислоти. На жаль, в результаті цього, в м'язах збільшується концентрація кислоти, яка утруднює їх функціонування (людина відчуває це як загальну слабкість та біль у м'язах), та може призвести до судоми.

В організмі людини молочна кислота приймає участь в ефектах, які супроводжують стан сильного сп'яніння. Оскільки вся метаболізуюча активність печінки буде затрачена на переробку етанолу, цей орган вже не буде здатним до зв'язування молочної кислоти. В цій ситуації молочна кислота може потрапити в кровоносну систему та підвищити кислотність м'язів. При цьому людина буде відчувати себе такою ж втомленою, як і спортсмен (але вже з іншої причини).

Молочна кислота також може впливати на осадження твердих речовин в організмі, особливо солей сечової кислоти (похідної пурину). Звичайно, такі солі виділяються разом із сечею, але молочна кислота інгібує їх виділення, завдяки чому солі сечової кислоти можуть відкладатися у суглобах, викликаючи подагру. Такі накопичення молочної кислоти утворюються в малих суглобах, особливо в метатарзально-фалангіальному суглобі великого пальця стопи; утворенню накопичень сприяють багаті пуринами харчові продукти та напої, включаючи класичних супутників подагри — червоні вина та портвейн.

Останнім часом значно розширилося використання молочної кислоти. Це обумовлено зростанням попиту в традиційних галузях її застосування, а також використання її для виробництва різних поверхнево-активних та фармацевтичних речовин. Слід зазначити, що в процесі виробництва молочної кислоти утворюється сіль молочної кислоти — лактат кальцію. Кальцій в цій солі міститься в органічно зв'язаному вигляді, тому легко засвоюється організмом людини. Тому

через це іноді технологічний процес виробництва молочної кислоти змінюють з метою отримання солей лактату кальцію або лактату натрію.

Кальцію лактат — це білий дрібний порошок майже без запаху. Він повільно розчиняється в холодній воді, швидко — в гарячій. Кальцій, що входить до складу лактату кальцію, має високу біологічну активність, він незамінний для будови кісток, зубів, бере участь у роботі м'язів, ендокринних залоз, формуванні імунітету, виявляє протизапальну дію, знижує чутливість організму до алергенів. Поки що в медичній літературі немає одностайної думки щодо добової потреби кальцію для людини. Національний інститут здоров'я США рекомендує до 1500 мг/добу з метою профілактики остеопорозу (Journal of the american college of nutrition, vol.13., № 5, 1994). За найсприятливішого харчування засвоєння кальцію, як правило, не перевищує 50 % від спожитого.

В Україні рівень споживання кальцію значно нижчий норми, тому дефіцит кальцію за відсутності необхідного харчування доцільно компенсувати його препаратами. Додавання кальцієвої солі молочної кислоти в хлібобулочні вироби, а також у кондитерські, м'ясні, овочеві й фруктові консерви, соки, джеми, повидла, варення, желе підвищує харчову й лікувально-профілактичну цінність харчових продуктів.

Іншу сіль молочної кислоти — лактат натрію та саму молочну кислоту використовують як буферні суміші в м'ясопереробних та хлібопекарських галузях. За даними фірми "Purak", ці солі знижують водну активність, а внесення від 2 до 4 % лактату натрію забезпечує емульсійну стабільність сосисок. Їх використовують також у технологічних лініях, пов'язаних з нарізанням шинки, ковбас, бекону тощо для запобігання розвитку гнилісних мікроорганізмів. Пари молочної кислоти мають бактерицидну активність, зокрема щодо стафілококу. Обробка м'яса і м'ясних продуктів водними розчинами

молочної кислоти забезпечує рН 4—4,5, що значно підвищує рівень чистоти, запобігає розвитку гнилісних мікробів, тривалість зберігання при температурі 4 °С збільшується в два-три рази. В рибній промисловості, за зарубіжними даними, молочну кислоту використовують як консервант, у хлібопекарстві — для профілактики картопляної хвороби й поліпшення смаку виробів з пшеничного борошна. Підкислення середовища молочною кислотою сприяє розвитку ферментативної активності дріжджів, прискорює дозрівання тіста, запобігає розвитку сторонніх мікроорганізмів. Тісто, виготовлене із молочною кислотою, досягає через 2,5—3 години. При цьому готові вироби з такого тіста більш пористі, у них кращі м'якуш, аромат, смак, вони стійкі до черствіння.

Провідні американські, західноєвропейські та японські фірми, що випускають харчову продукцію, акцентують увагу на тому, що молочна кислота — надійний природний консервант, вона поліпшує смак готових виробів, профілактично діє й лікує деякі захворювання шлунка й кишечника, заміняє оцтову й лимонну кислоти. За рубежом простежується тенденція до ширшого використання молочної кислоти замість оцтової. Виробництво молочної кислоти на Україні здійснюється вже більше 50 років. Її виготовляють згідно з вимогами ГОСТу 490-79 “Кислота молочна харчова. Технічні умови”. Діючий стандарт поширюється на кислоту, одержану збродженням цукровмісної (цукор-сирець, цукор-пісок, патока рафінадна, меляса бурякова) і лактовмісної сировини (сироватка молочна) молочнокислими бактеріями *Lactobacillus delbrukii*, *L. plantarum* та ін.

Молочнокислі бактерії відносяться до числа гомоферментативних термофільних бактерій з оптимумом розвитку 48-50 °С. Всі молочнокислі бактерії — факультативні анаероби і добре ростуть на поверхні твердого середовища в контактi з повітрям. Але вони не здатні

синтезувати АТФ за рахунок дихання. Навіть при вирощуванні на дуже багатих середовищах колонії молочнокислих бактерій завжди залишаються невеликими (не більш декількох мм в діаметрі). Вони ніколи не бувають піментованими і в результаті відсутності цитохромів завжди мають крейдяно-білий колір. Невеликий розмір колоній цих бактерій пояснюється, головним чином, низьким економічним коефіцієнтом росту, а це, в свою чергу, пояснюється тим, що вони існують за рахунок зброджування.

Інша важлива фізіологічна особливість молочнокислих бактерій — їх висока стійкість до кислоти, що обумовлено особливостями метаболізму цих бактерій. Ріст всіх молочнокислих бактерій триває до тих пір, доки в результаті бродіння величина рН не впаде до 5 або нижче. Здатність молочнокислих бактерій витримувати досить великі концентрації молочної кислоти має важливе селективне значення, тому що ця властивість дає їм можливість успішно конкурувати з більшістю інших бактерій в середовищах, багатих поживними речовинами.

Синтетичні можливості молочнокислих бактерій досить обмежені. Всі ці організми мають складні потреби у факторах росту: вони потребують вітамінів групи В та значної кількості амінокислот. В результаті таких складних вимог до поживних речовин молочнокислі бактерії звичайно культивують на середовищах, що містять пептон, дріжджевий екстракт або інші гідролізати рослинного або тваринного матеріалу. В якості джерела енергії поживні середовища повинні містити зброджувані вуглеводи.

Гомоферментативні організми перетворюють глюкозу майже кількісно в молочну кислоту за шляхом Ембдена-Мейергофа. Молочнокислі бактерії відрізняються у відношенні утворюваних ними ізомерів молочної кислоти, що визначається стереоспецифічністю лактатдегідрогеназ, які здійснюють відновлення пірувату. Деякі види

містять лише D-лактатдегідрогеназу і тому утворюють D-ізомер молочної кислоти, інші містять лише  $\alpha$ -лактатдегідрогеназу і утворюють L-ізомер. Певні види мають обидві лактатдегідрогенази різної стереоспецифічності, що призводить до утворення рацемічної молочної кислоти.

Штами *Lactobacillus*, за винятком *Lactobacillus casei*, синтезують, в основному, D(-) - молочну кислоту або суміш ізомерів. Термофільні штами *Streptococcus* синтезують винятково L(+) — молочну кислоту.

Встановлено, що умови культивування, наприклад температура, тривалість та склад поживного середовища, не впливають на конфігурацію молекули молочної кислоти.

В ряді наукових досліджень встановлено, що із двох ізомерів L(+) молочна кислота являється основним продуктом метаболізму в організмі людей та тварин. Кількість L(+) — молочної кислоти, яка утворюється в ході анаеробного гліколізу із глюкози або глікогену в тканинах м'язів організму людини, яка знаходиться в стані спокою, становить близько 100 мг/год на 1кг маси тіла. Швидкість перетворення ендогенної L(+) - молочної кислоти в організмі людини вагою 70 кг, яка виконує фізичну роботу протягом 5 годин та споживає 40 % (від максимальної потреби) кисню, складає 230 г/добу.

В протилежність L(+) — молочній кислоті інший оптичний ізомер — D (-) - молочна кислота, являється проміжним продуктом розпаду гліцину в ході окислювального циклу перетворення амінокислот. Незважаючи на те, що D(-) - ізомер молочної кислоти може синтезуватися певними бактеріями шлункового тракту, незначна кількість ендогенної D(-) - молочної кислоти не відіграє помітної ролі в процесах метаболізму. В літературі описані випадки ацидозу кишечника у деяких пацієнтів, причиною якого було утворення значної кількості

D(-) - молочної кислоти в результаті порушення життєдіяльності мікрофлори кишечника.

Згідно з літературними даними, знаходження L(+) - молочної кислоти в організм людини в складі продуктів молочнокислого зброджування звичайно не призводить до порушень процесів метаболізму та життєдіяльності кишкової мікрофлори.

L(+) — молочна кислота відіграє важливу роль в окислювальних процесах обміну речовин, а також в процесах синтезу глюкози, глікогену, амінокислот та проміжних продуктів циклу трикарбонових кислот. Природне збагачення L(+) – молочною кислотою продуктів харчування в ході молочнокислого зброджування підвищує їх поживну цінність.

D(-) - молочна кислота гірше переноситься організмом людини, тому що її перетворення відбувається значно повільніше, ніж у L(+) - молочної кислоти і, крім того, остання здатна сповільнювати дане перетворення. В зв'язку з цим, рядом дослідників на основі багаточисленних експериментів рекомендована максимальна норма споживання екзогенної D(-) - молочної кислоти, яка надходить до організму людини разом з продуктами харчування - вона повинна складати не більше 65 мг/день на 1 кг маси тіла. Всесвітньою організацією охорони здоров'я (FAO/WHO) в 1967 році була встановлена більш висока максимальна норма —100 мг/(кг·день). В інших документах FAO/WHO — Codex Alimentarius, які встановлюють норми для харчових добавок, дозволених для виробництва продуктів дитячого харчування, допускається використання лише L(+) - молочної кислоти, вміст якої повинен становити не більш 1,5 г/100 г сухого продукту на зерновій основі для немовлят віком до 1 року та дітей до 3 років, а також не більше 0,2 г/100 см<sup>3</sup> готового до споживання продукту у випадку консервів для дітей віком до 3 років.



З огляду на роль, яку відіграє L(+) - ізомер молочної кислоти в організмі людини, зрозуміло, наскільки велике значення має правильний вибір штамів для синтезу цієї сполуки. Для зброджування підготованого живильного середовища використовують спеціальні культури термофільних молочнокислих бактерій *Thermobacterium cereale* (*Lactobact. delbrukii*).

У виробництві молочної кислоти використовують штам БДШ (бактерії Дельбрюка—Шапошнікова), виділений В.І. Шапошніковим та А.Я. Мантейфель, та штам 83, виділеним в 1954 році С.М. Сосіною та співробітниками Мінського заводу молочної кислоти.

В 1963—1964 рр. із безперервного виробництва молочної кислоти був виділений штам 419 (В.Г. Свирида, О.Л. Клячкіна, та ін.). За морфологічними ознаками ці штами дуже схожі між собою.

Для зброджування сульфїтних щолоків використовуються молочнокислі бактерії виду *L. plantarum*. Вони зброджують гідролізати, які містять пентози (ксилозу, арабінозу) приблизно з однаковим виходом молочної та оцтової кислот. Сировиною для виробництва молочної кислоти слугує товарний цукор, картопляний та кукурудзяний крохмаль, меляса, рафінадна та кукурудзяна крохмальна патока, молочна сироватка, зернові культури, гідролізати деревини, сульфїтні щолоки.

Найбільш доступною є крохмалевмісна сировина (патока, злакові культури). Технологія переробки цих субстратів в молочну кислоту була розроблена В.М. Шапошніковим та А.Я. Мантейфель. Вона базується на зброджуванні середовищ термофільними молочнокислими бактеріями виду *Lactobacterium cereale*.

Одним із видів сировини у виробництві молочної кислоти являються гідролізати деревини та сульфїтні щолоки. Їх зброджують сумішшю декількох штамів гомо- та гетероферментативних бактерій.

При такому зброджуванні отримують суміш молочної, оцтової та інших кислот. Молочну кислоту із цієї суміші виділяють відгоном.

Підготовка поживного середовища із меляси та цукрової патоки заключається у наступному: спочатку їх освітлюють та розводять водою до 10-12 %-ної концентрації, а потім інвертують за допомогою сірчаної або хлористоводневої кислоти. В це середовище вводять необхідні для живлення бактерій сполуки фосфору у вигляді суперфосфату або інші поживні речовини у вигляді водного екстракту солодових зародків. Після нейтралізації середовища до рН 6,5 та введення 2 % крейди (по відношенню до цукру), його стерилізують, а потім зброджують.

При використанні крохмалевмісної сировини здійснюють оцукрювання крохмалю кислотою, ферментами солоду або пліснявих грибів. В якості джерела азотного живлення в середовище вводять муку із насіння бобових рослин (горох, квасоля, соя та ін.) або водний екстракт із солодових зародків. Оцукрене середовище направляють на бродіння. Під час ферментації до поживного середовища декілька разів на добу (3-4 рази) додають крейду (з метою підтримки стабільного рівня рН в межах 6,3-6,5).

Молочнокисле зброджування проводять при постійній температурі у межах 49-50 °С. Зниження температури до 46-48 °С викликає різке послаблення біохімічної активності культури бактерій та сприяє розвитку сторонньої мікрофлори. Підвищення температури до 53-55 °С також викликає інактивацію культури та уповільнення бродіння. Позитивний вплив на молочнокисле бродіння мають високоактивні речовини. З цією метою до поживного середовища додають екстракт зародків солоду. При нормальному бродінні за добу бактеріями зброджується близько 1—1,5 % цукрів, а весь цикл бродіння закінчується за 7—11 діб.

Мікробіологічне виробництво молочної кислоти проводять за наступною схемою (рис 5.1)

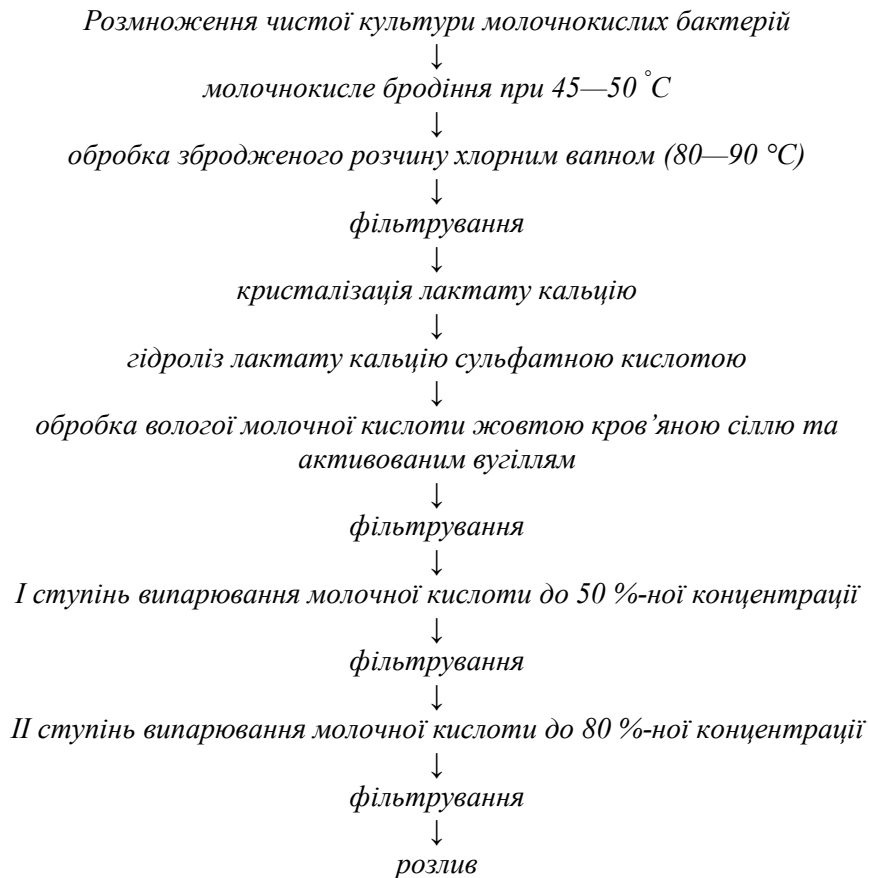


Рисунок - 5.1 - Схема мікробіологічного виробництва молочної кислоти

Значна роль в технології виробництва молочної кислоти відводиться обробці збродженого розчину та фільтруванню. Для відокремлення крейди та колоїдів зброджений розчин нагрівають до 80—90 оС, а потім змішують з хлорним вапном до слабколужної реакції. Суміш витримують протягом 3—5 годин для відстоювання. Для вилучення грубої зависі та твердих часток шар відстою з розчином лактату кальцію декантують.

Розщеплення лактату кальцію здійснюють після його центрифугування. Для запобігання обвуглюванню лактату сірчаною

кислотою процедуру розщеплення лактату кальцію з метою виділення вільної молочної кислоти проводять при температурі 60—70 °С.

Для відокремлення іонів заліза отриману вологу молочну кислоту при температурі 60—70 °С оброблюють жовтою кров'яною сіллю. При цьому в осад випадає берлінська синь. Знебарвлення молочної кислоти здійснюється методом адсорбції за допомогою активованого вугілля. Упарювання продукту відбувається на вакуум-апаратах при тиску 10-15 кПа та залишковому тиску пари 0,2 МПа.

*Контрольні питання до теми Т5:*

- 1. Назвіть галузь застосування молочної кислоти.*
- 2. Назвіть основні технологічні стадії виробництва лимонної кислоти.*
- 3. В чому полягає хімізм утворення лимонної кислоти?*
- 4. Назвіть продуцент молочної кислоти.*
- 5. Назвіть основні компоненти поживного середовища.*

## **Тема Т6. Технологія виробництва оцтової кислоти**

Оцтова кислота  $\text{CH}_3\text{COOH}$  - безбарвна рідина з різким запахом. У результаті перегонки спиртового розчину, що перебродив, одержують 70-80 %-вий розчин оцтової кислоти, відомий за назвою оцтової есенції. З товарних форм оцтової кислоти відомі чиста харчова (70-80 %-ва), чиста оцтова (70-80 %-ва), безводна, або крижана (98-99,8 %-ва), оцтова кислота, що випадає в осад при охолодженні у вигляді кристалів.

Оцтова кислота широко використовується в харчовій, хімічній, мікробіологічній промисловості, у медицині.

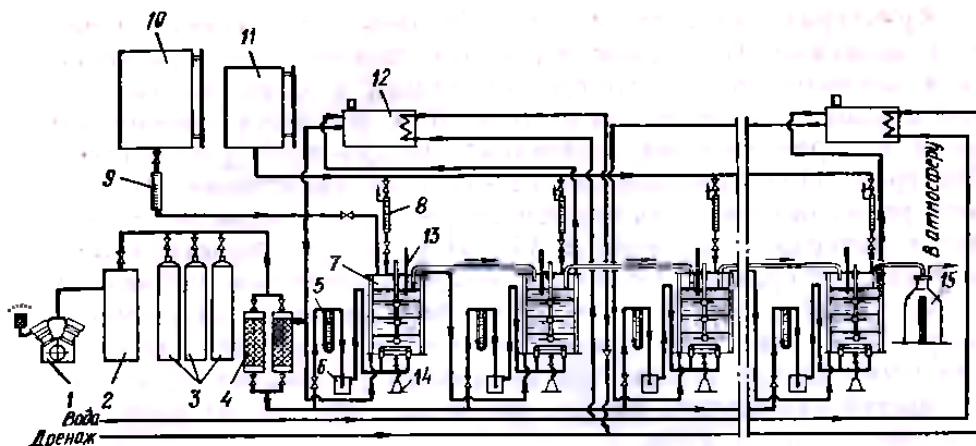
Оцтовокисле бродіння засноване на здатності оцтовокислих бактерій роду *Acetobacter* окисляти етиловий спирт в оцтову кислоту.

Реакцію утворення оцтової кислоти каталізує окисний фермент алкогольоксидаза.

Для цього процесу сприятливі температури 28 °С для культури *Bact. schiitzenbachii* й 35°С для культури *Bact. curvum*, а також кисла реакція середовища. оцтовокислі бактерії добре розвиваються при рН 3.

У промислових умовах оцтовокисле бродіння проводять безперервним способом при глибинному проточному культивуванні оцтовокислих бактерій у батареї послідовно з'єднаних апаратів (рис. 6.1). Схема виробництва включає наступні основні технологічні стадії: одержання посівного матеріалу, підготовку сировини, оцтовокисле бродіння, розлив готового продукту.

Здатністю перетворювати етиловий спирт в оцтову кислоту володіють різні види оцтовокислі бактерій. В оцтовокислому бродінні використовують в основному два види бактерій: *Bact. schiitzenbachii* та *Bact. curvum*. Це грамнегативні спороутворюючі палички, розміром 0,4-0,8 мкм, які мають джгутики.



1 - компресор; 2 - ресивер; 8 - балон зі стисненим повітрям; 4 - фільтр (бактерицидний); 5 - реометр; 6 - урівнюючий бачок; 7 - культиватор МИХМ-1-30 л; 8 - мірник етанолу; 9 - мірник поживного середовища; 10 - напірний бак для поживного середовища; 11 - бак напірний для етанолу; 12 - термостат; 13 - термометр; 14 - колба відбору проб; 15 - збірник готового оцту

Рисунок 6.1 - Схема установки для культивування оцтовокислих бактерій

Культуру оцтовокислих бактерій підтримують на агаризованому середовищі Лайценської. Для одержання посівної культури оцтовокислі бактерії вирощують у колбах на рідкому поживному середовищі, а потім в 30-літровому лабораторному апараті.

Найкращою сировиною для оцтовокислого бродіння є етиловий спирт, який одержують із зернокартопляної сировини. Для переробки використовують як ректифікат, так і спирт-сирець. Але при підвищеному вмісті сивушного масла в спирті-сирці виробничий процес порушується, тому що вищі спирти гнітять розвиток оцтовокислих бактерій.

На життєдіяльність оцтовокислих бактерій великий вплив має реакція середовища. Прийнято вважати, що оптимальний рН для їхнього розвитку перебуває в межах 3-3,2, однак надлишок оцтової кислоти в зброджуемому середовищі гнітить життєдіяльність бактерій-продуцентів.

Після накопичення 8 % оцтової кислоти розвиток бактерій сповільнюється й при зміні 12-14 % кислоти повністю припиняється. Для збереження природної чистоти бактеріальної популяції оптимальної вважається концентрація кислоти близько 10 %. Важливим показником є й гранична концентрація спирту в зброджуемому середовищі. Для *Bact. schiitzenbachii* вона становить 6-7 об. %, для *Bact. curvum* - 9-14 об. %. У промисловості оцтовокисле бродіння проводять у батареї, що із п'яти послідовно з'єднаних ферментаторів.

Всі апарати виконані з нержавіючої сталі Х18Н10Т й оснащені мішалкою, барботером і змієвиковим теплообмінником. Перший апарат батареї є генератором оцтовокислих бактерій і безупинно постачає всі наступні апарати активною культурою. У ньому створюються умови, що сприяють швидкому розмноженню оцтовокислих бактерій. Крім того, в апараті відбувається інтенсивне окислювання етанолу в оцтову кислоту.

Для здійснення цих процесів у перший апарат безупинно подається середовище, сумарна концентрація етанолу й оцтової кислоти в якому 6,4- 6,7 %.

Культуральна рідина з апарата в апарат передається повітрям. У кожному апараті системи підтримуються свій постійний температурний режим й оптимальні умови аерації. Температура від 6 до 10 °C є мінімальною, нижче її припиняється життєдіяльність всіх оцтовокислих бактерій. При температурі 12-15 °C у оцтовокислих бактерій розмноження сповільнюється, нормальний розвиток відбувається в інтервалі температур 15-34 °C. У виробничих умовах температуру бродіння підтримують на рівні 28 - 25 °C. Слід зазначити, що окислювання спирту в оцтову кислоту відбувається тільки при інтенсивній аерації - теоретично необхідна кількість кисню становить 32 частини на 46 частин безводного спирту по масі, або 2,3 м<sup>3</sup> повітря на 1 кг безводного спирту.

У процесі оцтовокислового бродіння температура від ферментатора до ферментатору знижується. Якщо в першому вона дорівнює 28 °C, то в останньому - 25 °C. Зменшується також й аерація з 0,35-0,40 м<sup>3</sup>/(м<sup>3</sup>·хв) у першому ферментаторі до 0,1-0,15 м<sup>3</sup>/(м<sup>3</sup>·хв) в останньому ферментаторі. У кожному ферментаторі створюються умови, що сприяють інтенсивному окислюванню етанолу в оцтову кислоту. Для підтримки в другому, третьому й четвертому апаратах заданої концентрації спирту в них подають середовище з 40 % -вим етанолом. Процес ведуть таким чином, щоб з п'ятого апарата виводилася культуральна рідина з концентрацією оцтової кислоти не нижче 9 % й не вище 9,2-9,3 %. З 100 л безводного спирту одержують 75-90 кг оцтової кислоти.

Перед розливом 9 %-вої оцтової кислоти (столового оцту) її освітлюють бентонітом з додаванням невеликої кількості лимонної кислоти. Після перемішування розчин оцтової кислоти подають на

фільтр-прес. Відфільтрований розчин надходить у збірник готового продукту, а потім на розлив.

*Контрольні питання до теми Т6:*

- 1. Назвіть галузь застосування оцтової кислоти.*
- 2. Назвіть основні технологічні стадії виробництва оцтової кислоти.*
- 3. Які основні апарати використовують при виробництві оцтової кислоти?*
- 4. назвіть продуцент оцтової кислоти.*

## **Тема Т7. Технологія виробництва ітаконової кислоти**

Ітаконовая кислота  $C_5H_6O_4$  є ненасиченою двоосновною кислотою. Наявність у молекулі двох карбоксильних груп й активної метиленової групи визначає високу активність полімеризації ітаконової кислоти й участь у різних реакціях приєднання.

Ітаконова кислота являє собою білий кристалічний порошок, добре розчинний у воді й деяких органічних розчинниках, має молекулярну масу 130,1, щільність 1,63 і температуру плавлення 167-168 °С.

Ітаконову кислоту можуть синтезувати деякі штами мікроскопічних грибів роду *Aspergillus* (*Asp. terreus*, *Asp. itaconicus*), які вирощують глибинним або поверхневим способами на поживних середовищах, що містять сахарозу, мелясу й навіть продукти гідролізу деревини.

Виробництво ітаконової кислоти включає наступні основні технологічні стадії: одержання посівного матеріалу, культивування продуцента глибинним способом, виділення ітаконової кислоти.



Біосинтез ітаконової кислоти пов'язаний з реакціями циклу Кребса.

Одержання посівного матеріалу. Для виробництва ітаконової кислоти поверхневим і глибинним способами використовують відселекціоновані штами *Asp. terreus* й *Asp. itaconicus*. Посівний матеріал розмножується в пробірках з агаризованим середовищем (сусло-агар), а потім у колбах на рідкому поживному середовищі. Тривалість кожної стадії 2-6 доб, оптимальна температура культивування 30-32 °С.

Культивування *Asp. terreus* глибинним способом. При одержанні ітаконової кислоти глибинним способом культивування продуцента для підращування міцелію й на стадії виробничої ферментації може бути використане середовище однакового складу, але з різною концентрацією компонентів.

Поживне середовище для підращування міцелію доцільно засівати попередньо (за 10-12 год) замоченими в середовищі конідіями з розрахунку 0,75 г конідій на 1 м<sup>3</sup> середовища.

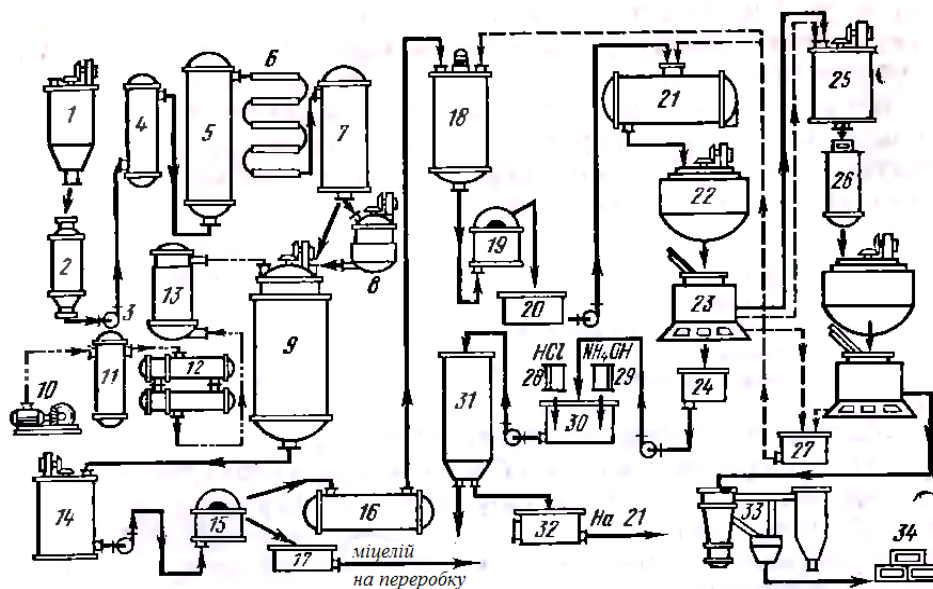
Біосинтез ітаконової кислоти протікає найбільше інтенсивно при засіві виробничого ферментатора культурою, що перебуває на прикінці логарифмічної фази росту, що відповідає приблизно 30 год росту.

Процес утворення кислоти у ферментаторі протікає при постійному перемішуванні й аерації середовища при температурі 33-36°С протягом 72 год. До кінця процесу ферментації вміст ітаконової кислоти становить 37-38 г/л при загальному вмісті кислот у збродженому розчині 38,5-39,0 г/л.

В умовах поверхневого способу збродження розчину сахарози (шар 12 см) культурою *Asp. terreus* за 10-12 діб утвориться 56-58 % ітаконової кислоти в перерахуванні на цукор, причому ітаконова кислота

становить 94-97 % від суми всіх кислот, що утворилися (фумарової, щавлевої, янтарної).

Технологічна схема одержання ітаконової кислоти глибинним способом представлена на рис. 7.1



1 - змішувач; 2- сітчастий фільтр; 3 - відцентровий насос; 4-стерилізаційна колона; 5 - витримувач; 6 - охолоджувач; 7- збірник; 8 - ферментатор для підروщування; 9 - ферментатор виробничий; 10 - компресор; 11 - ресивер; 12 - холодильник; 13-фільтр; 14 - збірник; 15 - барабанний вакуум-фільтр; 16 - збірник-монтежу; 17 - збірник міцелію; 18 – збірник-освітлювач; 19-барабанний вакуум-фільтр; 20 - збірник розчинів; 21 - вакуум-апарат; 22 - кристалізатор; 23 - центрифуга; 24 - збірник фільтрату; 25 - розчинник кристалів; 26 - друк- фільтр; 27-збірник маточних розчинів; 28 - мірник соляної кислоти; 29 - мірник розчину аміаку; 30 - реактор для розведення; 31 - аніонітовий фільтр; 32-збірник розчинів; 33 - сушарка; 34 - готова продукція

Рисунок 7.1 - Технологічна схема одержання ітаконової кислоти глибинним способом

У зброджених розчинах у середньому міститься від 3 до 6 % ітаконової кислоти, 0,5-1,5 % незброджених цукрів, 0,3- 0,6 % інших органічних кислот і невелика кількість різних солей і барвників.

Виділення ітаконової кислоти. Киплячий зброджений розчин, звільнений від грибного міцелію, обробляють активним вугіллям (0,3-0,5%) і фільтрують. Фільтрат упарюють при температурі 50-60 °C до 1/4-

1/10 первісного обсягу. Упарений розчин подається в кристалізатор, де охолоджується до 13-15°C. Кристалізується ітаконова кислоти 75- 80 % від її змісту в розчині.

Технічна ітаконова кислота відокремлюється на центрифугі. Вона містить 3-6 % вологи, 1-3 % інших органічних кислот й 2-5 % різних домішок. Для очищення технічну ітаконову кислоту розчиняють у гарячій воді до 25 %-вої концентрації й освітлюють активованим вугіллям (5-8 % по масі кислоти). Гарячий розчин фільтрують, а потім кристалізують. У процесі центрифугування кристали кислоти промивають дистильованою водою.

Маточний розчин після перекристалізації упарюють до 30-40 % первісного обсягу й кристалізують удруге. Із цією метою гарячий розчин знову фільтрують і концентрують. Концентрат повільно охолоджують, а потім центрифугують. Кристали ітаконової кислоти, що випали, промивають дистильованою водою, сушать. Третя стадія очищення передбачає спільну обробку маточних і зброджених розчинів у зазначеній послідовності.

При підвищеному вмісті залишкових цукрів й інших домішок у зброджених розчинах рекомендується проводити виділення ітаконової кислоти за допомогою іонообмінних смол. Регенерація відпрацьованого іоніта здійснюється соляною кислотою, а перевод в основну форму - розчином аміаку.

*Контрольні питання до теми Т7:*

- 1. Назвіть галузь застосування ітаконової кислоти.*
- 2. Назвіть основні технологічні стадії виробництва ітаконової кислоти.*
- 3. В чому полягає біохімізм утворення ітаконової кислоти?*
- 4. назвіть основні апарати, які використовують при виробництві?*

## ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 2

### Розділ III. Технології виробництва амінокислот

Амінокислоти є основою всіх природних білків і служать незамінною складовою частиною їжі людини й кормових раціонів тварин. Відомо, що природні білки складаються з 20 амінокислот. Фізіологічне значення амінокислот неоднаково. Одні з них не синтезуються з достатньою швидкістю й у необхідній кількості в організмі людини й тварин, а тому повинні надходити разом із продуктами харчування. Це так названі незамінні амінокислоти. До них відносяться валін, аргінін, гістидин, лізин, лейцин, ізолейцин, метіонін, треонін, триптофан, фенілаланін. Інші синтезуються в організмі: аспарагінова, пролін, аланін, глутамінова, серин, тірозин, цистин, цистеїн. Нормальний обмін речовин в організмі людини й тварин протікає тільки при надходженні в нього незамінних амінокислот у достатній кількості в певнім співвідношенні. Зміна необхідного співвідношення амінокислот у їжі може стати фактором, що лімітує ріст і розвиток організму.

Амінокислоти можна одержувати з кислотних і лужних гідролізатів природних білків і із продуктів їхнього ферментативного розщеплення. Однак висока собівартість і дефіцитність вихідної сировини (відходи м'ясної промисловості, яєчний білок, казеїн молока, клейковина пшениці), а також багатоступінчаста хімічна обробка, пов'язана з виділенням амінокислот та їхнім очищенням, не дозволяють широко використати цей спосіб у промисловості. У процесі кислотного гідролізу білків спостерігається руйнування більшої частини триптофану, цистеїн при цьому окисляється в цистин, розпадаються треонін та серин. Певні недоліки має й метод ферментативного

гідролізу. Зокрема, гідроліз може бути неповним, і сам фермент зі звільненням амінокислот здатний розпадатися.

Амінокислоти можна одержувати хімічним синтезом, однак основний недолік цього способу - утворення рацематів (за винятком гліцина), що складаються з рівноважної суміші D- і L-форм амінокислот. Біологічно активними є L-амінокислоти, виключення становить метіонін.

Найбільше рентабельно й економічно вигідне одержання амінокислот мікробіологічним способом. Мікробіологічний процес вільний від недоліків хімічного синтезу, і насамперед від утворення рацематів амінокислот.

### **Тема Т9. Технологія виробництва глютамінової кислоти**

За оцінками, кожного року в світі виробляється близько 800000 т амінокислот вартістю більше 5 млрд. доларів. При цьому більше половини об'єму виробництва припадає на  $\alpha$ -глютамінову кислоту, яка використовується для отримання широко відомого підсилювача смаку та аромату - глютамату натрію (мононатрієва сіль глютамінової кислоти — МНГ,  $C_5H_8O_4NNa$ ).

МНГ утворюється при старінні м'яса в результаті розпаду білків. Самій МНГ властивий лише слабкий присмак м'яса, але суміш мононатрієвої солі глютамінової кислоти та інозинмонофосфату (ІМФ) має інтенсивний смак м'яса; більш того, саме присутністю цієї суміші і обумовлений смак м'яса. МНГ підсилює чутливість рецепторів солоного та гіркого смаку, які знаходяться на язиці, але точний механізм її дії поки що не встановлений.

Різні харчові продукти містять МНГ та ІМФ в різних співвідношеннях; відповідно вони відрізняються і за смаком. В яловичині вдвічі більше МНГ, ніж у свинині, хоча за вмістом ІМФ ці продукти майже не відрізняються. Гриби також багаті білками, що містять глютамінову кислоту: цим і пояснюється їх слабкий м'ясний присмак та властивість покращувати смакові якості багатьох страв.

Деякі мікроорганізми (в тому числі *Micrococcus* і *Brevibacterium*) в багатому аміаком середовищі виділяють в це середовище глютамінову кислоту. Така “ферментація” аміаку являється зараз звичайним промисловим методом отримання МНГ.

Промисловим продуцентом глютамінової кислоти та її солей на вітчизняних заводах являється культура *Corinebacterium glutamicum* та *Brevibacterium spp.* Це безспорві грамнегативні бактерії, що свого часу були виділені із ґрунту. Звичайно для підсилення продуктивності цих мікроорганізмів використовують мутагенез з наступним відбором штамів — суперпродуцентів глютамату натрію. Такий спосіб отримання штамів вимагає багато часу, однак ефективність його невелика. Більш перспективним являється альтернативний (генноінженерний) підхід, який заключається у виділенні і зміні альтернативних генів, які кодують ключеві ферменти певних біохімічних реакцій.

Нині великі надії покладаються на створення плазмідних векторів, спеціально призначених для експресії в *Corinebacterium* та *Brevibacterium spp.* Планується створити човникові вектори *E. coli* - *Corinebacterium*. Та їх частина, яка походить із плазмід *E.coli*, може містити гени стійкості до тетрацикліну, хлорамфениколу або канаміцину. Оскільки *E.coli* і *Corinebacterium spp.* чутливі до цих антибіотиків, ці гени можуть слугувати селективним маркером для обох мікроорганізмів.

Але ефективний метод трансформації *C. glutamicum* до цього часу не розроблений. Це пояснюється тим, що багато генів *C. glutamicum* неефективно експресуються в *E. coli*; частота трансформації при введенні ДНК в *C. glutamicum* звичайним способом або електропорацією дуже низька. Проникнення екзогенної плазмідної ДНК в протопласти дещо полегшується в присутності поліетиленгліколю. Але, поки що на відчизняних підприємствах використовують штами, створені традиційними методами селекції та відбору.

Ефективність синтезу глютамінової кислоти культурою *Corinebacterium glutamicum* значною мірою залежить від компонентів та їх кількості у ферментаційному середовищі. Поживне середовище для синтезу глютамінової кислоти містить бурякову мелясу, кукурудзяний екстракт, сечовину, хлорид амонію, сірчаноокислий магній, калій фосфорнокислий однозаміщений. Синтез глютамінової кислоти в значній мірі залежить від концентрації меляси у ферментаційному середовищі. Так, при концентрації меляси від 2 до 4 % фізіологічні параметри за глютаміновою кислотою дорівнюють нулю, а всі вуглеводи використовуються для росту бактеріальної маси. Із зростанням концентрації спостерігається процес наростання кількості біомаси, поступово зростає фізіологічна активність культури за синтезом глютамінової кислоти. Максимальної активності культура досягає при концентрації цукру у фундаментаційному середовищі 100,64 г/дм<sup>3</sup>, після чого цей показник зменшується, і тим помітніше, чим вища концентрація цукру в середовищі. Коефіцієнт використання цукрів за біомасою являється максимальним при мінімальній концентрації вуглеводів. З підвищенням їх концентрації коефіцієнт використання зменшується.

Разом з тим, як свідчать літературні дані, на середовищах із вмістом цукру до 100 г/дм<sup>3</sup> розмноження культури в основному

завершується протягом 24 годин. У наступні 24 години приріст бактеріальної біомаси становить не більш 10 % від її залишкової кількості в культуральній рідині. При більш високій концентрації цукру розмноження культури уповільнюється і приріст біомаси на другу добу ферментації становить від 30 до 50 %.

Синтез глютамінової кислоти має зворотну залежність. За першу добу ферментації вона накопичується в незначній кількості, а після другої доби спостерігається різке зростання її концентрації. Таким чином, глютамінова кислота є типовим вторинним метаболітом, синтез її не пов'язаний із ростом культури. Тому, для підвищення концентрації глютамінової кислоти в культуральній рідині культуру необхідно вирощувати при більш низьких концентраціях вуглеводів у середовищі. Коли ріст завершений, необхідно додавати компоненти для синтезу глютамінової кислоти, тобто вносити поживні речовини на другій стадії процесу.

Використання в поживному середовищі хлористого амонію стимулює ріст культури *Corinebacterium glutamicum* значно краще, ніж інші джерела азоту, але забезпечує менший вихід глютамінової кислоти. Тому на стадії вирощування культури слід використовувати хлористий амоній, а на стадії ферментації — сечовину.

Відомо, що продуцент глютамінової кислоти має властивість за певних умов змінювати направленість синтезу й продукувати глютамін за рахунок глютамінової кислоти. Тому, регулюючи вміст біотину (він повинен бути достатньо низьким), відносно високі концентрації хлористого амонію, іони цинку та слабкокіслі значення рН можна досягти збільшення вмісту глютамінової кислоти за рахунок глютаміну. Заміна хлористого амонію в посівному середовищі на діамонійфосфат також дає можливість зменшити витрати глютамінової кислоти на синтез глютаміну.



Згідно з літературними даними, великий вплив на синтез глютамінової кислоти має кукурудзяний екстракт. Максимальної кількості глютамінової кислоти можна досягти при використанні посівної культури, вирощеної на середовищі з кукурудзяним екстрактом у кількості 0,6 %. Вплив кукурудзяного екстракту на приріст біомаси негативний: при збільшенні дози екстракту з 0,3 до 0,45 та 0,6 %; на стадії посівної культури кількість біомаси зменшується. Але питома продуктивність культури за глютаміновою кислотою із збільшенням дози екстракту зростає від 0,748 (в середовищі без екстракту) до 1,584 (при дозі екстракту 0,6 %). Тобто, кукурудзяний екстракт у посівному середовищі для культури *Corinebacterium glutamicum* є джерелом енергетичних ресурсів, які забезпечують високу продуктивність при ферментації. Тому, збільшуючи дозу кукурудзяного екстракту в посівному середовищі, можна підвищити продуктивність за глютаміновою кислотою. Технологічний процес отримання глютамінової кислоти виглядає наступним чином. Вирощеною в лабораторних умовах культурою *Corinebacterium glutamicum* 3144 засівають посівне середовище в інокуляторі, де проводять її культивування протягом 18-24 годин. Об'єм посівного матеріалу в інокуляторі повинен бути не меншим 5 % від ємності середовища в ферментері. Вирощений в інокуляторі посівний матеріал передають по заздалегіть простерилізованому трубопроводі в ферментатор; ферментацію проводять із підживленням стерильним концентратом поживного середовища з апарата-сателіта. Після закінчення ферментації культуральна рідина з біомасою надходить в реактор з мішалкою, в якому підкислюється концентрованою сірчаною кислотою до величини рН 1,5-2. Для попередження сильного піноутворювання і нагрівання кислоту вводять невеликими порціями із періодичним перемішуванням протягом 30-40 хв. Потім підкислена культуральна рідина подається на

мікрофільтраційне обладнання для відокремлення осаду у вигляді біомаси й мінеральних домішок. Отриманий фільтрат збирається в спеціальний збірник, звідки подається на іонітний фільтр. Внаслідок великої висоти іоннообмінника фільтрат культуральної рідини надходить на іоннообмінну колонну знизу вгору, що запобігає ущільненню гранул сорбенту. Пропускання фільтрату культуральної рідини закінчується після повного насичення катіоніту глютаміновою кислотою. Паралельно проводиться контроль за вмістом сухих речовин, глютамінової кислоти, показника заломлення і рН рівноважного розчину. Відібраний нативний розчин збирається в збірник, звідки подається на упарювання разом з елюатом, призначеним для скидання. Після закінчення процесу сорбції глютамінової кислоти частина фільтрату, яка знаходиться у фільтрі разом з несорбованою глютаміновою кислотою, скидається з колони у збірник до оголення смоли й використовується в наступному циклі сорбції. Для повного вичавлювання фільтрату з міжгранульного простору проводиться продування колони повітрям. Проведення такої операції зменшує витрати води на відмивання смоли елююванням глютамінової кислоти. Відмивання смоли дистильованою водою проводиться згори вниз до повного відокремлення будь-яких домішок культуральної рідини (контроль за показниками мутності й кольоровості). Після цього проводиться десорбція із смоли глютамінової кислоти 2 Н розчином аміаку. При цьому відбувається розділення елюату на бідні та багаті фракції. Бідні фракції складаються з початкових та кінцевих об'ємів елюату з концентрацією глютамінової кислоти не більше 15—20 г/дм<sup>3</sup>. Багаті фракції з вмістом глютамінової кислоти від 30 до 120 г/дм<sup>3</sup> збираються в реактор-кристалізатор. У зв'язку з тим, що вміст аміаку в збагаченому елюаті становить не більше 0,6—0,67 %, з технологічної схеми виключається малопродуктивна операція з випарювання аміаку й довипарювання багаті частини

елюату. Тому наступна стадія - кристалізація глютамінової кислоти. Для цього збагачена суміш повільно підкислюється до рН 3,2—3,4 концентрованою сірчаною кислотою, і при перемішуванні й поступовому зменшенню температури до 10—15 °С витримується протягом 15—18 годин до утворення кристалів глютамінової кислоти. Процес кристалізації завершується при накопиченні глютамінової кислоти в маточному розчині до 17—20 г/дм<sup>3</sup>. Потім проводиться відокремлення кристалів і їх промивання дистильованою водою. Маточний розчин і промивні води збираються в проміжні ємності, з яких потім передаються: маточник - у цикл сорбції, промивні води - на повторне використання. Через те, що отримані кристали глютамінової кислоти характеризуються високим ступенем чистоти (99 %) з технологічної схеми виключається стадія перекристалізації (розчинення кристалів глютамінової кислоти, обробка розчину активованим вугіллям, кристалізація, відокремлення кристалів і відмивання їх водою). Після закінчення десорбції з катіоніту глютамінової кислоти відбувається скидання з колони розчину аміаку 13, з якого він згодом використовується як перша порція елюату в наступному циклі елюції, що зменшує як витрати глютамінової кислоти, так і кількість стоків. Потім колона знову заповнюється 2Н розчином аміаку з метою регенерації смоли, тобто переведення її в NH<sub>4</sub><sup>+</sup> - форму й виведення з неї барвників і мінеральних речовин. Після закінчення регенерації (розчин, що виходить, повинен мати світлий колір) розчин аміаку, що знаходиться у фільтрі, зливають у ємність, а колона відмивається водою до величини рН 8,5-9 і в такому вигляді смола знову використовується для сорбції глютамінової кислоти. Більша частина промивних вод збирається в апарат, доводиться аміаком до 1Н розчину і знову використовується в наступному циклі в процесі десорбції і регенерації смоли.

За даною технологічною схемою повністю усувається частина стоків шляхом їх повторного використання в результаті повернення в робочий цикл, а решту стоків можна використати для отримання вторинних продуктів (корма для худоби й добрива).

Описаний спосіб одержання глютамінової кислоти та її солей характеризується такими технологічними показниками:

- концентрація глютамінової кислоти в культуральній рідині, г/дм<sup>3</sup>, не менше - 40,0;
- тривалість процесу ферментації – 52-66 год;
- коефіцієнт заповнення ферментатора - 0,6;
- тривалість вирощування посівного матеріалу - 24 год;
- тривалість повного обігу ферментатора - 72 год;
- витрати стерильного розчину сечовини на ферментацію - 0,057м<sup>3</sup>;
- тривалість повного обігу збірника сечовини - 36 год;
- кількість завантажень ферментатора за тиждень - 2;
- вихід продукту, % до синтезованого, не менше - 65.

За даною технологією спеціалістами УкрНДІспиртбіопродукту розроблено вихідні вимоги на проектування промислового виробництва глютамінової кислоти та її солей на Лохвицькому спирткомбінаті та Лужанському експериментальному заводі.

*Контрольні питання до теми Т9:*

- 1. Яке застосування знайшла глютамінова кислота в харчовій промисловості, медицині, хімічній промисловості?*
- 2. Дайте характеристику промислових продуцентів глютамінової кислоти та її солей.*
- 3. Які компоненти входять до складу поживних середовищ для виробництва глютамінової кислоти?*
- 4. Яка залежність існує між синтезом біомаси та накопиченням глютамінової кислоти?*

5. Чому на різних стадіях біосинтезу глутамінової кислоти використовуються різні джерела азотного харчування?

6. Як впливає кукурудзяний екстракт на ріст біомаси тана синтез глутамінової кислоти?

### Тема Т10. Технологія виробництва лізину

Лізин ( $\alpha$ ,  $\epsilon$ -діамінокапронова кислота) відомий у вигляді двох оптично активних D- і L-форм і рацемічної DL- форми. Емпірична формула  $C_6H_{12}N_2O_2$ . Молекулярна маса 146,19. Лізин добре розчинний у воді, кислотах, важко розчинний у спирті й не розчинимо в ефірі. Амінокислота при температурі 224-225°C розкладається. Кристалізується лізин у вигляді безбарвних голок або гексагональних пластинок.

Установлено, що в організмі лізин визначає не тільки біологічну цінність білка. Амінокислота виконує багато й інших біохімічних функцій - вона сприяє секреції травних ферментів і транспорту кальцію в клітини, поліпшує загальний азотний баланс в організмі. Застосування лізину в хлібопекарській промисловості підвищує біологічну цінність і поліпшує якість виробів. Від додавання лізину в раціони тварин (0,1-0,4%) значно збільшується коефіцієнт використання білка, і тим самим знижується витрата кормів на одиницю продукції.

Біосинтез лізину здійснюється за допомогою ауксотрофних мутантів мікроорганізмів роду *Micrococcus*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium* й ін. Поживні середовища, які використовуються для вирощування мікроорганізмів і біосинтезу амінокислоти, містять як джерело вуглеводів бурякову мелясу, кукурудзяний екстракт або білкові гідролізати - джерела амінокислот. Джерелами азоту можуть служити солі амонію, сечовина. При біосинтезі лізину важливу роль грає

концентрація факторів росту в середовищі - біотину й необхідних амінокислот - метіоніну, гомосерину, треоніну. Для росту й біосинтезу лізину культурою *Brevibacterium* sp.22 оптимальної вважається наступна концентрація на 1 л поживного середовища: метіоніну 200 мг, треоніну 800 мг, біотину 15-20 мкг. При зменшенні концентрації біотину (на 1 л) до 1-4 мкг культура *Brevibacterium* sp. 22 синтезує глютамінову кислоту, при збільшенні до 2,5 мг утвориться молочна кислота - явище, відоме як механізм зворотної дії.

Біосинтез лізину мікроорганізмами (діамінопімеліновий шлях) починається з аспарагінової кислоти й проходить через діамінопімелінову кислоту. Один шлях біосинтетичних перетворень аспарагінової кислоти приводить до синтезу лізину, інший - до синтезу гомосерину. Гомосерин - проміжний продукт для синтезу треоніну й ізолейцину, з одного боку, і метіоніну - з іншого. При порушенні біосинтезу треоніну, метіоніну й ізолейцину на стадії утворення гомосерину хід реакцій перетворення аспарагінової кислоти зрушується у бік утворення лізину.

Слід зазначити, що в синтезі лізину ключовим ферментом є аспартаткіназа. При синтезі лізину підвищені концентрації треоніну інгібують аспартаткіназу. Цей ефект підсилює присутність лізину. Треонін у бактерій (*E. coli*, *Micrococcus glutamicus*) інгібує дегідрогеназу напівальдегіду аспарагінової кислоти й гомосериндегідрогеназу. Метіонін стосовно гомосериндегідрогенази є репресором. Треоніндегідрогеназу інгібує ізолейцин. Таким чином, продукти обміну речовин, що гнітять різні ферменти й беруть участь у синтезі лізину, повинні бути виведені з реакції. Саме тому ауксотрофні мікроорганізми є найбільш зручними для виробництва. Наприклад, культура, позбавлена активності гомосериндегідрогенази, забезпечує досить високі виходи лізину.

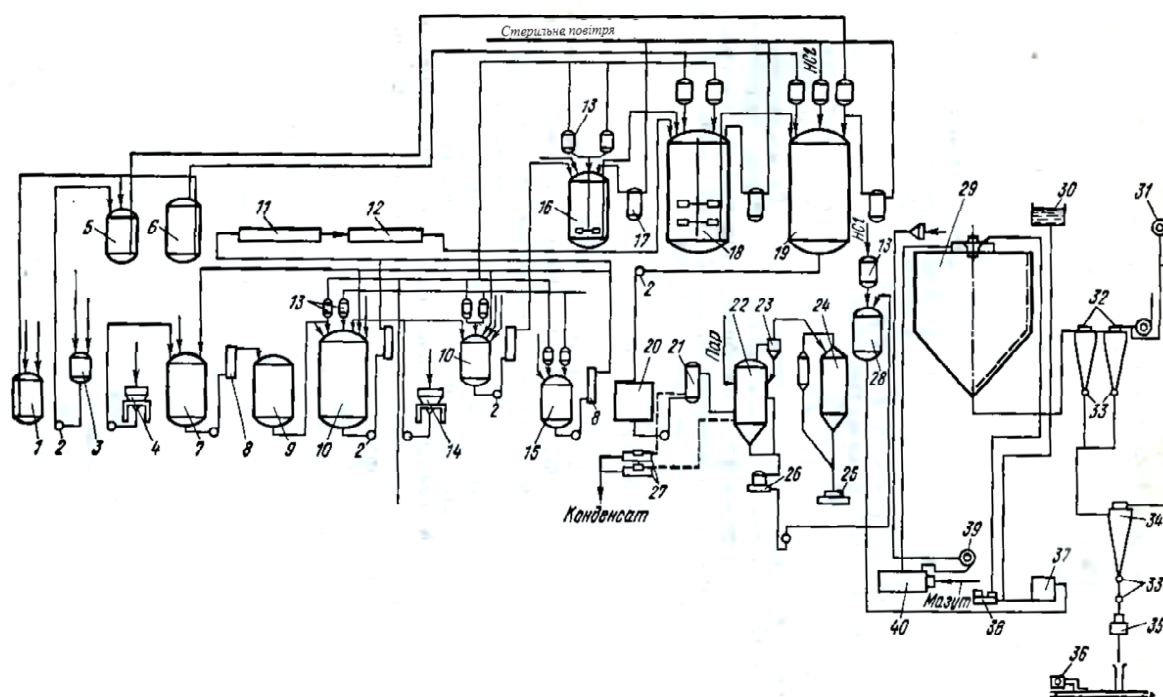
Технологія одержання кристалічного L-лізину складається із двох основних стадій: культивування продуцента й виділення кінцевого продукту. На стадії культивування відбувається двоступінчасте вирощування посівної культури *Micrococcus glutamicus* в інокуляторах і посівних апаратах. Попередньо вирощеною культурою засівається ферментатор, у якому в стерильних аеробних умовах при безперервному перемішуванні (температура 30-33 °С) здійснюється біосинтез. При ферментації протягом 50-70 год при рН 7,4 концентрація лізину в розчині досягає 40 г/л.

Отримана після біосинтезу культуральна рідина направляється на освітління, у результаті відокремлюється біомаса. Осад відокремлюють фільтрацією, сушать, розмелюють і використовують як кормовий продукт, що містить близько 40 % білкових речовин.

Очищений розчин з рН 7,0 пропускають через катіоніт. Кожні 100 г катіоніту сорбують 6-8 г лізину. Після промивання іонообмінника водою проводиться десорбцію лізину 0,5-5,0 %-вою аміачною водою, одержаний розчин містить 80-90 % лізину від сорбованої кількості. Елюат упарюється у вакуумі при 60 °С до 30-50 %-вого вмісту амінокислоти. За допомогою соляної кислоти встановлюють рН 4,9, розчин упарюють і кристалізують амінокислоту при охолодженні до 12-14°С. Кристали монохлоргідрату лізину відокремлюють на нутч-фільтрі, промивають етиловим спиртом і висушують при 60 °С. Форма готового продукту: L-лізин монохлоргідрат, вміст основної речовини 97-98 %, вологість 0,5 %, зольність до 0,3%, температура плавлення 210 °С. Вихід лізину на стадії виділення 76-78 %.

Для тваринництва одержують кормовий концентрату лізину-ККЛ (рис. 10.1). Технологічний процес одержання ККЛ включає наступні основні виробничі стадії; вирощування посівного матеріалу й готування

поживного середовища, виробниче культивування, випарювання й сушка культуральної рідини, фасовка й пакування готового продукту.



1 - реактор з мішалкою для стерилізації піногасника; 2 - насос; 3 - реактор з мішалкою для розчинення бісульфіту; 4 - ваги для м'яса; 5 - збірник для розчину бісульфіту; 6 - збірник для стерильного піногасника; 7- апарат з мішалкою для попереднього розведення м'яса водою; 8 – стерилізаційна колона; 9 - реактор для витримки попередньо розведеної м'яса; 10- реактор з мішалкою для готування поживного середовища; 11 - теплообмінник для витримки поживного середовища; 12 - теплообмінник для охолодження поживного середовища; 13 - мірник; 14 - ваги для кукурудзяного екстракту; 15-реактор з мішалкою для розчинення поживних солей; 16- посівний ферментатор; 17 - повітряний фільтр індивідуальний; 18 - виробничий ферментатор; 19 - реактор для стабілізації культуральної рідини; 20 - збірник культуральної рідини; 21 - решофер-підігрівач; 22 - випарний апарат; 23 - піноловушка; 24 - барометричний конденсатор; 25 - барометричний ящик; 26 - збірник концентрату; 27-збірник конденсату; 28 - збірник упареного концентрату; 29- сушильна камера; 30-резервуар води; 31 - відсмоктувальний вентилятор; 32 - циклонна батарея; 33 - шлюзовий затвор; 34 - циклон пневмотранспорту; 35 - автоматичні ваги; 36 - зашивочна машина із транспортером мішків готового продукту; 37 - змішувач; 38 - насос; 39 - нагнітальний вентилятор; 40 - мазутна крапка з вогневим калорифером

Рисунок 10.1 - Принципова технологічна схема виробництва кормового концентрату L-лизину

Культура *Brevibacterium* sp. 22 являє собою грампозитивні нерухомі бактерії, що мають форму клітин від овальної до коків.



Продуцент лізину - ауксотроф - має потребу в біотині, тіаміні, треоніні й метіоніні. Вихідну культуру розмножують на агаризованому середовищі (2 %-вий м'ясопептонний агар) і культивують при 29-30 °С. Один раз у два місяці культуру розсівають на агаризоване середовища. Активність колоній, що вирости перевіряють на рідкому поживному середовищі наступного складу (в %): меляса 3-5, кукурудзяний екстракт 2,5-3,5, хлорид натрію 0,3, рН середовища доводять до 7-7,2 додаванням 20 %-вого розчину гідроксиду натрію. Частина активних колоній висушують (ліофілізують), а частину пересівають на мясопептонний агар. Ккультури, що вирости, служать у якості вихідних для виробництва лізину. Перевірений на активність посівний матеріал вирощують на мелясо-кукурудзяному середовищі в колбах (на 750 мл) протягом 24 год при рН 6,9-7,0 і температурі 29-30°С. Посівний матеріал характеризується титром клітин  $2,0 \cdot 10^8$  в 1 мл середовища.

Середовище стерилізують 1 год при температурі 126 °С. У посівний ферментатор на 250 л вносять 3-5 % (від обсягу середовища) посівного матеріалу. Коефіцієнт заповнення посівного апарата дорівнює 0,5. Культуру вирощують при 29-30 °С, безперервної аерації (1 обсяг на 1 обсяг середовища у хвилину) і перемішуванні (мішалка турбінного типу, 300 об/хв) протягом 24 год.

Виробниче культивування продуценту здійснюється у ферментаторах місткістю 50 й 100 м<sup>3</sup>. До посіву посівним матеріалом, ферментатор промивається й стерилізується протягом 1 год при 0,1 МПа.

Поживне середовище стерилізується при температурі 130- 132 °С протягом 10-15 хв. Після охолодження до 30-32 °С середовище подають у ферментатор. По стерильній посівній лінії у ферментатор надходить посівний матеріал у кількості 5- 6 % від обсягу поживного середовища Коефіцієнт заповнення ферментатора становить 0,75. Процес

ферментації триває 48-72 год при температурі 29-30 °С, безперервному перемішуванні й аерації середовища стерильним нагрітим повітрям (до 50 °С) з розрахунку 1 обсяг на 1 обсяг середовища у хвилину при надлишковому тиску повітря у ферментаторі 20-30 кПа. Піногасіння здійснюється піногасником, що подається із мірника піногасника. Загальна витрата піногасника становить 0,5 % від обсягу середовища, причому 0,2 % піногасника вносять у момент готування поживного середовища.

Стабілізована 0,15%-вимм бісульфітом натрію культуральна рідина з рН 5,0-6,0 випарюється на вакуум-випарній установці. Початкова концентрація сухих речовин у рідині, що надходить на випарку, становить 10-15 %, кінцева - близько 40 %. Упарена культуральна рідина висушується нагрітим повітрям на розпилюючій сушарці з дисковим розпилювачем при 300/90 °С.

Висушений до залишкової вологості 4-8 % ККЛ фасується по 20 кг у крафт-мішки з поліетиленовим вкладишем. При правильному дотриманні технологічного режиму вихід Лізину на стадії ферментації становить 23-26 % від вмісту засвоєного цукру, а в культуральній рідині накопичується до 20-25 г/л L-лізину. Загальні втрати лізину на стадії випарювання й сушіння не перевищують 15 %.

Сухий концентрат кормового лізину, який одержали висушуванням стабілізованої й сконцентрованої рідини, має істотний недолік. Він дуже гігроскопічний і при зберіганні злежується великими грудками. Гігроскопічність препарату може бути знижена в результаті доброджування залишкових цукрів спеціальною культурою дріжджів або додаванням у процесі сушки ККЛ кісткового борошна, бентоніту. Один з варіантів одержання сухого препарату ККЛ полягає в тому, що рідкий концентрат лізину змішується із пшеничними висівками до одержання суміші вологістю близько 70 % і після гранулювання

висушується на конвективних сушарках. Готовий препарат ККЛ містить до 7-10 % лізіна, він сипкий й негігроскопічний.

*Контрольні питання до теми Т10:*

1. Де застосовується лізин?
2. Які рацемічні форми лізину Ви знаєте?
3. Які компоненти входять до складу поживних середовищ для виробництва L-лізину?
4. Як здійснюється біосинтез лізину?
5. Основні стадії одержання кристалічного L-лізину?

## **РОЗДІЛ IV. Технології білкових препаратів та ліпідів**

### **Тема Т12. Технологія одержання білкових препаратів**

Основна кількість білкових препаратів мікробного походження одержують у вигляді мікробних мас, шляхом вирощування мікроорганізмів на найрізноманітнішій сировині, що містить джерела вуглецю й інші біогенні елементи.

Незалежно від виду сировини технологічний процес виробництва мікробних білкових препаратів складається з наступних основних стадій: підготовка сировини й готування поживного середовища для вирощування мікроорганізмів; культивування мікроорганізмів; виділення біомаси продуцента із культуральної рідини; плазмоліз клітин; сушка біомаси; фасування й пакування готового препарату.

Найбільші розходження в технології мікробних білкових препаратів мають місце на першій стадії технологічного процесу - при підготовці сировини до наступного вирощування мікроорганізмів. Інші п'ять стадій майже не розрізняються для будь-якого виду сировини.

Для вирощування мікроорганізмів можуть використатися різні види сировини: відходи деревної сільськогосподарської рослинної сировини, рідкі й газоподібні вуглеводні, етиловий спирт, відходи виробництв харчової промисловості й т.д.

Залежно від складу поживного середовища застосовують різні продуценти білкових речовин. Так для одержання білка на гідролізатах рослинної сировини найбільше часто використовують дріжджі роду *Candida*: *C. utilis*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*, *C. scottii*; рідше дріжджі роду *Trichosporon*.

Найбільш продуктивними штамми (по біомасі й кількості білка) при їхньому вирощуванні на гідролізатах і гідролізно-спиртовій барді є *Candida scottii*, *Candida tropicalis*, *Candida utilis* і деякі інші культури.

При вирощуванні мікроорганізмів на сульфідних лугах, а також на сульфідно-спиртовій барді використовують дріжджі роду *Candida*, найчастіше *C. utilis* або *C. tropicalis*. У цей час застосовують спільне вирощування двох культур, які як би доповнюють один одного.

Рідкі вуглеводні добре засвоюються дріжджами роду *Candida*, що відносяться до наступних видів: *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*, *C. lipolytica*, *C. robusta*, *C. pelliculosa*, *C. scottii*, *C. rugosa*. До вуглеводен-споживаючих мікроорганізмів відносяться також дріжджі родів *Torulopsis* й *Rhodotorula*: *Torulopsis colliculosa*, *T. dattila*, *T. sake*, *T. famata*, *Rhodotorula glutinis*, *Rh. gracilis*.

Газоподібні вуглеводні найбільше добре споживаються бактеріями родів *Mycobacterium* й *Pseudomonas*. Ця здатність знайдена й в інших груп бактерій й актиноміцетів, що відносяться до родів *Actinomyces*, *Flavobacterium*, *Chromobacterium*, *Acremonium*, *Corynebacterium*, *Micrococcus* й *Staphylococcus*.

До мікроорганізмів-продуцентів білка, що використає як джерело харчування метан і його газоподібні гомологи, відносяться *Pseudomonas*

*methanica*, *Ps. fluorescens*, *Ps. candatus*, *Mycobacterium phley*, *Мyc. filiformae*, *Мyc. vadosum*, *Мyc. lacticolum*, *Мyc. mycosum*, *Мyc. luteum*, *Мyc. perrugosum*.

Для одержання кормового білка на метиловому спирті найбільш перспективними продуцентами є бактерії родів *Pseudomonas* й *Methylomonas*, а також дріжджі родів *Candida* й *Hansenula*. Найбільша кількість біомаси накопичують наступні види дріжджів: *Candida silvicola*, *C. boidinii*, *Hansenula polymorpha*, *Torula glabrota*, *T. ernobii* й ін. Серед бактерій треба назвати *Pseudomonas methanolica*, *Ps. rosea*, *Methylomonas methanolica* й ін.

На етиловому спирті вирощують дріжджі родів *Candida*, *Debaryomyces*, *Endomycopsis*, *Hansenula*, *Mycoderma*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, а також бактерії, що належать до родів *Aeetobacter*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Corynebacteriuni*, *Nocardia*, *Pseudomonas* й ін.

На відходах капролактаму добре розвиваються наступні мікроорганізми: *Candida guilliermondii*, *C. mycoderma* й *Trichosporon pullulans*; на гліцерині - *C. tropicalis*, *C. rugosa*, *C. guilliermondii*, *Trichosporon cutaneum*, *C. intermedia*, *C. reukaufii*; на фенолі - *C. tropicalis*, *Rhodotorula glutinis*.

Мікроорганізми - продуценти білка - вирощують у ферментаторі 1 (рис.12.1), куди подають поживне середовище, солі, аміачну воду, повітря та чисту культуру мікроорганізму з посівного апарата. Готова культуральна рідина з біомасою з ферментатора насосом перекачується у флотатора 2, де відбувається поділ її на багату клітинною біомасою піну й відпрацьовану культуральну рідина. Із внутрішньої склянки флотатора дріжджова суспензія перекачується насосом 3 через газовіддільник 4 на сепаратори 5 I групи. Відпрацьована культуральна



рідина із цієї групи сепараторів для зниження втрат біомаси відводиться на флотатори або ж зливається через очисні спорудження в каналізацію, а дріжджова суспензія надходить самопливом у збірник 7, звідки водоструминним насосом 8 перекачується на сепаратори II групи 6. У водоструминному насосі дріжджі відмиваються від залишків культуральної рідини. У технологічних схемах, де відсутні флотатори, рідина з ферментаторов надходить безпосередньо на сепаратори.

Концентрована суспензія білкової біомаси після II групи сепараторів самопливом надходить у збірник 9, звідки насосом перекачується в плазмолізатор-нагрівач 10 безперервної дії. Із плазмолізатору суспензія перекачується в напірний бак 11, де якийсь час видержується перед надходженням на стадію розпарювання.

Розпарювання суспензії клітинної біомаси відбувається у двохкорпусній вакуум-випарній установці 12. Вторинна пара, що утвориться при упарюванні суспензії в першому корпусі установки, відокремлюється від неї в випарювачі й, пройшовши пастку 13, надходить у нагрівальну камеру, підігрівника другого корпусу випарний установки.

Упарений концентрат біомаси безупинно відбирається із другого корпусу й направляється насосом у збірник 14. Зі збірника дріжджовий концентрат насосом подається в розпилюючу сушарку 15. Порошкоподібний сухий препарат, що утворився, передається пневмотранспортом у циклон 17 пакувального відділення й далі в бункер 18. Відпрацьований сушильний агент для вловлювання часток продукту, пропускається через сепараційну установку, що складається з ряду циклонів 16, а потім викидається в атмосферу через скруббер 19, зрошуваний водою. Відділений від сушильного агента порошок сухого білкового препарату також пневмотранспортом подається в бункер,

звідки готовий продукт надходить на впакування в спеціальну тару н на складування.

*Контрольні питання до теми Т12:*

- 1. Де використовуються білкові препарати?*
- 2. Назвіть на якій стадії технології мікробних білкових препаратів існують найбільші розходження?*
- 3. Назвіть продуценти білкових препаратів?*
- 4. З яких основних апаратів складається апаратурна схема виробництва білкових препаратів?*

### **Тема Т13. Технологія одержання ліпідів**

Ліпіди - це органічні речовини, нерозчинні у воді, але розчинні в бензолі, ефірі, ацетоні. Ліпіди є головними компонентами біомембран і виступають як запасний, ізолюючий і захищаючий органи матеріал. Мікроорганізми є продуцентами фосфоліпідів, гліколіпідів, незамінних жирних кислот і препаратів на їх основі, що застосовують у різних сферах життя людини. Наприклад, у медицині ліпіди використовуються як переносники ряду вітамінів, регулятори транспорту води і солей, імуномодулятори, а також як регулятори активності деяких ферментів і передавачі біологічних сигналів. Важлива роль їм приділяється при виробництві ліпосом, що сприяють запобіганню утворення тромбозу.

У сільському господарстві ліпіди використовують при годуванні тварин і птахів. Наприклад, при годуванні птахів перевага віддається ліпідам, що містять до 65-75% ненасичених жирних кислот.

Мікробні ліпіди, що містять значну кількість жирних кислот з двома подвійними зв'язками, можна використовувати для виробництва



лаків і фарб. Ліпіди також застосовують в текстильній, керамічній, шкіряній, металообробній промисловостях.

Після другої світової війни значна кількість робіт була спрямована на пошук можливостей одержання мікробних ліпідів для харчових цілей. Раціон з 25 г жирових дріжджів може забезпечити організм людини 10 г ліпідів, 6 г білка і багатьма іншими необхідними речовинами, що на 20% задовольняє денну потребу в цих з'єднаннях.

Продуцентами ліпідів є дріжджі й міцеліальні гриби, причому ліпіди є побічними продуктами загального виробництва при одержанні білково-вітамінних концентратів.

За допомогою дріжджів можливе одержання ліпідів на різних субстратах: гідролізатах рослинної сировини, сульфідних лугах, вуглеводнях нафти й ін. Ефективність виробництва дріжджового жиру багато в чому зв'язана з кількістю основної сировини, необхідного для одержання визначеної одиниці маси дріжджів, і його вартістю.

Крім того сировина, на базі якої готується поживне середовище для вирощування дріжджів, повинна забезпечувати одержання ліпідів, що відповідають вимогам, пропонованим промисловістю, що переробляє ліпіди в різні продукти. Найбільш відпрацьовані технологічні схеми одержання ліпідів за допомогою дріжджів на гідролізатах верхового торфу малого ступеня розкладання і вуглеводнях нафти.

Мікробні ліпіди мають переваги для використання в медицині і харчовій промисловості, тому що є екологічно чистими препаратами.

Як кормові добавки, ліпіди як самостійний продукт, не роблять, тому що їхній вміст цілком достатньо для харчування тварин і в кормових дріжджах і в білкових концентратах. При виробництві білкових концентратів, що містять підвищений вміст ліпідів, здійснюють їх відділення від білкового концентрату. При цьому одержують окремо мікробний жир і знежирений білковий концентрат.

Таким чином, з одного боку, це дозволяє одержувати збалансовані за своїм складом кормові добавки для сільськогосподарських тварин, з іншого боку - одержувати технічний мікробний жир, як сировину для зазначених вище цілей і очищені ліпіди для виготовлення косметичних товарів і лікарських препаратів (як основу для мазей, суппозиторій і ін.).

Кормові дріжджі одержують вирошуванням дріжджів роду *Candida* на звичайних гідролізатах або парафінах нафти. Вміст ліпідів у клітинах дріжджів відносно невисоке (16-20 % на суху біомасу).

Однак виділення ліпідів із дріжджів економічно вигідно, тому що кормові дріжджі виробляються у великих кількостях, а зайвий вміст ліпідів є в ряді випадків небажаним для білкових концентратів.

Сировиною для одержання мікробного жиру є ті ж поживні середовища що і для одержання білкових препаратів: гідролізати рослинних відходів, торф, молочна сироватка, післяспиртова барда, рідкі, газоподібні й окислені вуглеводні.

Продуцентами ліпідів, що мають практичне значення, є ліпідні дріжджі *Cryptococcus terricolus*, *Lipomyces*, *Sporobolomyces* і інші. Загальні вимоги до їхнього росту - по-перше, збалансована поживне середовище з визначеним співвідношенням джерел вуглецю й азоту в середовищі, по-друге, строго аеробний метаболізм, повне виключення бродіння.

Процес виробництва мікробного жиру можна охарактеризувати як безперервний, тому що подача поживного середовища і відбір культуральної рідини відбувається безупинно при постійній швидкості потоку в такій системі, установлюється стаціонарний стан, при якому концентрація біомаси субстратів, питома швидкість росту мікроорганізмів і інших параметрів – постійні. Безперервним процес є найбільш перспективним, тому що він дозволяє скоротити витрати ручної праці й автоматизувати виробництво.

Джерелами вуглецю й енергії для мікроорганізмів – продуцентів ліпідів – при спрямованому культивуванні з метою одержання мікробного жиру можуть бути вуглеводи, карбонові і жирні кислоти, вуглеводні, спирти.

Технологічна схема одержання мікробних ліпідів на відміну від технологічної схеми одержання мікробних білкових препаратів включає стадію виділення ліпідів із клітинної біомаси методом екстракції. При цьому одночасно виходять два продукти – мікробний жир і знежирений білковий препарат.

Технологічний процес одержання мікробних ліпідів, так само як будь-якого продукту мікробного походження, включає стадії приготування поживного середовища, вирощування мікроорганізмів, відділення біомаси мікроорганізму від культуральної рідини, плазмоліз і сушіння.

Принцип відділення ліпідів від білкової маси дріжджів досить простий: їх екстрагують неполярним розчинником, найчастіше бензином, фільтруванням відокремлюють нерозчинний у бензині білковий шрот, і після видалення розчинника виділяють суміш ліпідів - мікробний жир. Для більш повного видалення ліпідів із дріжджової маси необхідна попередня обробка кормових дріжджів, вирощених у дріжджеростильних апаратах і висушених у розпилюючій сушарці.

Отримані після сушіння дріжджі насамперед гранулюють шляхом продавлювання зволоженої маси через фільтри гранулятора. Гранули надходять на вальци вальцьової дробарки, де вони подрібнюються (розплющуються), при цьому відбувається руйнування дріжджових клітин, що необхідно для більш повної екстракції ліпідів із дріжджів. Далі масу сушать у пневматичній сушарці до повного видалення вологи (залишки вологи приводять до забруднення мікробного жиру

водорозчинними пептидами), просівають на гуркоті і направляють на стадію екстракції.

Екстракція проводиться за принципом екстракції з твердих речовин у типових екстракторах або в батареях дифузорів. У якості екстрагента використовують бензин, що досить ефективно екстрагує ліпіди і легко регенерується з мінімальними втратами. Отриманий у результаті екстракції розчин біожиру називається місцелла. Місцеллу відокремлюють від білкового шроту на прес-фільтрах і направляють на стадію дистиляції для відгону розчинника. Система відгону складається з двох ступіней. На першій ступіні відгін бензину проводиться в роторно-плівковому випарнику до концентрації біожиру близько 90%. Остаточне видалення розчинника проводиться у вакуум-дистиляторах. Бензин повертається на стадію екстракції, а отриманий технічний біожир або фасують у тару і направляють споживачу, або піддається додатковому очищенню, для використання його в готуванні косметичних або лікарських препаратів.

Знежирена білкова маса (шрот), надходить у спеціальний апарат - десольвентор, де вона обробляється гострою парою. Під дією пари і високої температури дріжджі цілком звільняються від розчинника і далі надходять на грануляцію і сушку.

*Контрольні питання до теми Т13:*

- 1. Де використовуються мікробні ліпіди?*
- 2. Назвіть компоненти поживного середовища для вирощування продуцентів мікробних ліпідів?*
- 3. Назвіть продуценти ліпідів?*
- 4. З яких основних апаратів складається апаратурна схема виробництва ліпідів за допомогою мікроорганізмів?*

## **РОЗДІЛ V. Технології одержання фармацевтичних препаратів**

### **Тема Т14. технологія виробництва ферментних препаратів**

Ферменти - білкові речовини, що виконують функції каталізаторів хімічних реакцій і використовуються в медицині, харчовій, фармацевтичній й хімічній промисловості. Реакції, здійснювані ферментами, не вимагають екстремальних умов (температури, кислотності середовища й ін.), оптимальне значення температури для більшості ферментів 20-40 °С, її підвищень до 40 °С і вище, як правило, тягне зниження активності ферментів і їхню повну денатурацію. Ферменти характеризують висока швидкість, стереоспецифічність, і незначна кількість побічних продуктів. Важлива їх властивість - ефективність каталізу (ферменти збільшують швидкість у  $10^{10}$ - $10^{12}$  разів) і вибірковість дії (кожен фермент, як правило, каталізує одну хімічну реакцію). Ферменти здатні каталізувати не тільки розщеплення, але й утворення хімічного зв'язку.

Ферменти - високомолекулярні з'єднання з м.м. від 10000 до 1000000. Ферментні білки малостійкі, досить чутливі до змін рН і температури. Для кожного ферменту існує оптимум значення рН, при якому швидкість каталізуємої реакції максимальна; відхилення значення рН у ту або іншу сторону ведуть до зниження швидкості ферментативної реакції.

За економічними і технологічними міркуваннями одержувати ферменти за допомогою мікроорганізмів більш вигідно, ніж з рослинних і тваринних джерел. Мікробні клітини містять або продукують більше двох тисяч ферментів, які каталізують біохімічні реакції, пов'язані з ростом, подихом й утворенням продуктів. Культури

мікроорганізмів здатні продукувати велику кількість ферментів за короткий час із використанням дешевих вихідних речовин.

До теперішнього часу в науковій літературі описане близько 3000 ферментів, приблизно 100 з них застосовують у промисловому виробництві. Промисловість випускає понад 50 індивідуальних ферментів й вдвічі більше ферментних препаратів.

У біологічних об'єктах ферменти перебувають у фіксованому стані на поверхні різних клітинних структур і зберігають активність протягом тривалого часу. Інтенсивність біосинтезу будь-якого ферменту мікроорганізмом, його продуктивність обумовлена генетичними властивостями продуцента. Функціонування біосинтетичної системи регулюється складом поживного середовища й з динамікою зміни окремих її компонентів під час росту мікроорганізмів. Культивування мікроорганізмів -продуцентів ферментів доцільно в середовищах строго детермінованого складу, що забезпечують спрямований біосинтез потрібного ферменту.

Синтез багатьох ферментів репресується джерелами вуглецю, що легко засвоюються (глюкозою, фруктозою, манозою й ін.); цей ефект носить назву катаболітної репресії (іноді глюкозним ефектом). Катаболітній репресії піддається біосинтез таких ферментів, як  $\alpha$ -амілаза, целюлаза, глюкоамілаза, інвертаза, транселіміназа полігалактуранової кислоти.

Ферменти, які каталізують перетворення азотмістких субстратів, також регулюються за механізмом катаболітної репресії; їх біосинтез репресується іонами амонію або амінокислотами, що швидко засвоюються. Амінокислоти в анаеробних умовах культивування ініціюють біосинтез відповідних декарбоксилаз. При наявності в середовищі великої концентрації сечовини стимулюється біосинтез уреаз. Введення в середовище культивування аргініну індукуює

біосинтез аргінази. Джерелами органічного азоту можуть служити пептон, дріжджовий екстракт, гідролізат казеїну або будь-яка їхня суміш.

Наявність у середовищі культивування різних біополімерів обумовлює одночасне нагромадження комплексу протеаз, амілаз, нуклеаз, ліпаз.

На ріст мікроорганізмів і біосинтез ферментів істотний вплив вносять іони кальцію, марганцю, цинку й ін. Іони заліза й магнію активують і стабілізують протеолітичні ферменти. Присутність іонів заліза й міді в середовищі культивування істотно для біосинтезу залізо- і мідьмістких ферментів, що беруть участь, як правило, в окислювально-відновних реакціях (утилізації й перетворення енергії). Відсутність таких іонів може негативно відбитися на швидкості багатьох метаболічних процесів і на біосинтезі ферментів, що каналізують ці процеси.

Продуценти ферментів, що відносяться до строгих анаеробів, вимагають повністю безкисневих умов культивування й дуже багатих, повноцінних середовищ. Процес культивування в цьому випадку можна проводити в більше простих ферментерах, тому що не потрібна аерація й перемішування.

Оптимізація поживних середовищ і умов культивування для забезпечення спрямованого біосинтезу продуцентом цільового продукту є важливим етапом розробки біотехнологічного процесу одержання високоочищених ферментів. Переважний біосинтез культурою потрібного продукту з мінімальним вмістом сторонніх білків дозволяє надалі істотно спростити виділення й очищення ферментів.

Технологічні схеми глибинного культивування аеробних й анаеробних мікроорганізмів майже не відрізняються одна від іншої, за

винятком того, що в схемах культивування анаеробних мікроорганізмів виключається стадія підготовки повітря й використовуються ферментатори без аеруючих пристроїв і мішалок.

На рис. 1.14 наведена технологічна схема культивування мікроорганізмів глибинним методом. Сухі компоненти середовища подаються в складське приміщення заводу по пневмотранспорту. З циклона 1 за допомогою трубоконвейера 2 вони надходять у бункери 3, а з них по трубоконвейеру 4 – на автоматичні ваги 5. Якщо потрібно ввести до складу середовища солі або інші компоненти в невеликій кількості, то вони надходять у шнек 6, що транспортує сипучі матеріали в норню 7. З норні компоненти середовища надходять у змішувач 8 для готування виробничого поживного середовища. Сюди ж надходять вода й рідкі компоненти через відповідні дозуючі й мірні пристрої.

Для розчинення солей і клейстеризації крохмалю середовище підігривають. Підготовлене підігрите середовище за допомогою насоса 30 надходять у нагрівач 22 системи безперервної стерилізації поживного середовища й потім подається в спіральний теплообмінник 23 для витримання при температурі 140°C. Стерильне поживне середовище охолоджується в теплообміннику 24 і направляється в чистий стерильний ферментатор 25, який заповнюють на 65-75 % залежно від ступеня піноутворення при рості культури.

Посівний матеріал одержують у посівному відділенні. Середовище для нього готують у спеціальній невеликій ємності 9, нагрівають, перемішують і насосом 10 направляють в інокулятори першого 16 і другого 19 щаблів, де проводяться стерилізація, охолодження й засів середовища. Суспензія вихідної культури пересівається спочатку в колби на качалці, потім подається в інокулятор першого щабля 16, вирощується в ньому й повністю





передавлюється в інокулятор другого щабля 19 зі стерильним охолодженим середовищем. Вирощений посівний матеріал з інокулятора 19 передається у ферментатор 25. У процесі культивування проводиться піногасіння. Піногасник стерилізують у спеціальному апараті періодичної дії 12, потім охолоджується й надходить через мірник 14 у ферментатор. У процесі культивування в інокуляторах і ферментаторі зростаюча культура аерується кондиціонованим стерильним повітрям. Стиснуте у компресорі й нагріте від 80 до 220°C повітря після видалення конденсаційної вологи надходить у головний фільтр 11, заповнений скловатою. Далі очищене повітря надходить в індивідуальні фільтри тонкого очищення 13, 15, 17, 20, 26 і подається для охолодження піногасника й аерації зростаючої культури в інокуляторах 16, 19 і ферментаторі 25. Повітря, що відходить, з інокуляторів і ферментатора перед викидом в атмосферу очищається у фільтрах 18, 21 и 27.

Готова культуральна рідина насосом 30 або самоплином при перемішуванні надходить у теплообмінник 28 для охолодження перед надходженням у збірник 29. Необхідність охолодження викликана тим, що відразу всю культуральну рідину обробити неможливо, а при тривалому зберіганні в збірнику може відбутися інактивація БАР. Зі збірника 29 охолоджена рідина в міру необхідності подається на фільтрувальну установку.

#### *Контрольні питання до теми Т14.*

- 1. Що таке ферменти та ферментні препарати?*
- 2. Який склад повинно мати поживне середовище для виробництва ферментів?*
- 3. Назвіть продуценти ферментних препаратів?*
- 4. З яких основних апаратів складається апаратурна схема виробництва ферментів?*

## Тема Т15. Технологія виробництва антибіотиків

Антибіотики - специфічні продукти життєдіяльності різних груп мікроорганізмів, нижчих і вищих рослин і тварин або їхніх модифікацій, що володіють високою фізіологічною активністю відносно певних груп мікроорганізмів або злоякісних пухлин, вибірково затримуючий їхній ріст або пригнічуючи розвиток.

Утворення антибіотиків - спадково закріплена особливість метаболізму організмів. Це проявляється в тім, що кожен вид (або навіть штам) здатний утворювати один або декілька певних, строго специфічних для нього антибіотичних речовин. Разом з тим однакові антибіотики можуть утворюватися декількома видами організмів (це свідчення того, що дані мікроорганізми мають загального предка). Утворення антибіотика обумовлене певним характером обміну речовин, що виникають і закріпленим у процесі еволюції організму. Еволюційне значення антибіотиків підкреслюється тим, що в антибіотикоутворенні може бути включене близько 1% генів продуцента (рід *Streptomyces*) і ця частина ДНК, незважаючи на енергетичні витрати при її реплікації, не губиться під час селекції в природних умовах.

Антибіотики - перші лікарські засоби, отримані біотехнологічним способом. З антибіотиками людство зіштовхується із древніх часів.

Біосинтез антибіотика здійснюється мікроорганізмами на певному етапі їхнього розвитку. Ця закономірність характерна для бактерій, міцеліальних грибів (*Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus fumigatus* й ін.) і для більшості актиноміцетів, що утворюють такі антибіотики, як стрептоміцин, хлортетрациклін, окситетрациклін й інших. Максимально високу активність штаму-продуцента здатна забезпечити технологія рекомбінантних ДНК, тому що можна створювати нові антибіотики з

унікальною структурою, що роблять могутніший вплив на певні мікроорганізми. Генно-інженерні підходи використовуються для збільшення виходу антибіотиків і відповідно зниження вартості їхнього виробництва.

Приклади промислових продуцентів основних антибіотиків представлені в табл. 15.1.

Таблиця 15.1 - Приклади промислових продуцентів основних антибіотиків

Антибіотик	Продуцент
Антибіотики, які продукують бактерії	
1. Граміцидин С	<i>Bacillus brevis</i>
2. Поліміксини	<i>Bacillus polymyxa</i>
3. Бацитрацини	<i>Bacillus licheniformis</i> u <i>B. erevis</i>
4. Нізин	<i>Streptococcus lactis</i>
Антибіотики, які продукують актиноміцети	
1. Стрептоміцин	<i>Streptomyces griseus</i>
2. Неоміцин	<i>Streptomyces fradiae</i>
3. Канаміцин	<i>Streptomyces kanamyceticus</i>
4. Гентаміцин	<i>Micromonospora purpurea</i>
5. Сизоміцин	<i>Micromonospora inyoensis</i>
6. Тобраміцин	<i>Streptomyces tenebraris</i>
7. Хлортетрациклін	<i>Streptomyces aureofaciens</i>
8. Окситетрациклін	<i>Streptomyces rimosus</i>
9. Амфотерецин В	<i>Streptomyces noolus</i>
10. Тетрациклін	<i>Streptomyces aureofaciens</i>
11. Хлорамфеникол	<i>Streptomyces venezuelae</i>
12. Еритроміцин	<i>Saccharopolyspora erythraea</i>
13. Спираміцин	<i>Streptomyces ambofaciens</i>
14. Тилозин	<i>Streptomyces fradiae</i>
15. Нистатин	<i>Streptomyces noursei</i>
16. Леворин	<i>Streptomyces levoris</i>
Антибіотики, які продукують гриби	
1. Пеніциліни	<i>Penicillium chrysogenum</i>
2. Цефалоспорин	<i>Cephalosporium acremonium</i>
3. Циклоспорин	<i>Trichoderma polysporum</i>
4. Гризеофульвін	<i>Penicillium griseofulvum</i>
5. Фузидин	<i>Fusidium coccineum</i>

При проведенні першої стадії технологічного процесу застосовують натуральні середовища невизначеного складу, до числа яких відносять продукти крохмалепатокового виробництва, агар, желатин, висівки, зерно. Композиція натуральних середовищ

невизначеного складу не є постійною. Наприклад, агар, який одержують з різних видів морських водоростей, за хімічним складом - складний ефірний комплекс полісахариду із сірчаною кислотою й різноманітними мікроелементами. Агар містить також жирні кислоти, біотин, тіамін або його компоненти. У картопляному середовищі із глюкозою й пептоном, при одній і тій же партії пептону й хімічно чистої глюкози, склад картопляного екстракту залежить від сорту картоплі, місця його вирощування, часу збирання, строку й режиму зберігання й інших причин. Тому для одержання порівнянних результатів, особливо при вивченні фізіологічних і біохімічних особливостей мікроорганізму, застосовують синтетичні середовища, до складу яких входять певні хімічно чисті з'єднання, узяті в точно зазначених концентраціях.

Завдання другої стадії - створити оптимальні умови для розвитку продуцента й максимально можливого біосинтезу необхідного антибіотика. Особливість виробництва антибіотиків - двофазний характер розвитку продуцентів. У першій фазі розвитку культури, що носить назва тропофазі (фази збалансованого росту мікроорганізму), іде інтенсивне нагромадження біомаси продуцента. Продуцент синтезує білки, нуклеїнові кислоти, вуглеводи, ферменти, і інші БАВ, необхідні для росту мікроорганізму; спостерігається швидке споживання основних компонентів субстрату, інтенсивне поглинання кисню. У культуральному середовищі може знижуватися рН, як результат накопичення органічних кислот. У тропофазі антибіотик, як правило, не утвориться або його кількість незначна. Можливо, у цій фазі синтез ферментів, що приймають участь в утворенні антибіотика, подавлений. У другій фазі - ідіофазі (фази незбалансованого росту мікроорганізму) - накопичення біомаси вповільнене. Культуральне середовище вже збіднене компонентами, необхідними для розвитку продуцента й збагачена продуктами його життєдіяльності. В культурі переважають

протеолітичні процеси, що приводять до її підлуджування. Продукти метаболізму мікроорганізму частково використовуються на побудову клітин міцелію, частково - на синтез антибіотика. Максимум біосинтезу антибіотика в культуральному середовищі наступає, як правило, після максимального накопичення біомаси, цей максимум неоднаковий у різних мікроорганізмів і при різних умовах культивування.

Практика промислової мікробіології показує, що процес одержання того або іншого продукту життєдіяльності активніше йде в змішаних культурах, при спільному розвитку декількох видів (частіше двох) мікроорганізмів. Спільним культивуванням спеціально підібраних мікроорганізмів створюють умови, при яких значно збільшується утворення антибіотиків, як результат активації ряду біохімічних процесів. У змішаних культурах ферментативна реакція служить відповіддю на прояв певних антагоністичних взаємин. При спільному культивуванні різних мікробів можуть виникати своєрідні гібриди цих організмів, що володіють іншими властивостями в порівнянні з вихідними чистими культурами. З накопиченням певної концентрації антибіотика ріст мікроорганізмів припиняється (наприклад, *Streptomyces griseus* припиняє свій ріст при концентрації в середовищі стрептоміцину сульфату 0,5%). З культуральному середовищі антибіотики виділяють екстракцією органічними розчинниками, осадженням, адсорбцією.

Очищення антибіотиків проводять повторною заміною розчинника, адсорбційно-хроматографічними методами. Від ступеня чистоти препарату, вологості, температури, рН розчинника залежить стабільність антибіотика.

Потім оцінюють антимікробний спектр, стерильність, токсичність, пірогенність, дія на лейкоцити крові й інші показники. На всіх стадіях одержання антибіотика строго дотримується технологічна дисципліна, всі процеси здійснюються в асептичних умовах.

*Контрольні питання до теми Т15.*

1. Що таке антибіотики і де вони використовуються?
2. Який склад повинно мати поживне середовище для виробництва антибіотиків?
3. Назвіть продуценти антибіотиків?
4. З яких основних стадій складається схема виробництва антибіотиків?

**Тема Т16. Технологія одержання вітамінних препаратів**

Вітаміни - органічні сполуки, необхідні для нормальної життєдіяльності людського організму. Вони являють собою речовини різних біохімічних класів, однак подібні по фізіологічній дії - мають високу біологічну активність і беруть участь у процесах обміну речовин. Вітаміни входять до складу ферментних систем, відіграють важливу роль у засвоєнні білків, жирів і вуглеводів, а також у захисних функціях організму людини.

По походженню вітаміни класифікують на:

- натуральні (природні) рослинного або тварини походження;
- напівсинтетичні й синтетичні, які одержують на основі біотехнології.

За розчинністю всі вітаміни діляться на 2 групи:

- жиророзчинні: ретинол (вітамін А), кальцифероли (вітамін Д), токофероли (вітамін Е) та філохінони (вітамін К)
- водорозчинні: аскорбінова кислота (вітамін С), вітаміни групи В – тіамін (вітамін В<sub>1</sub>), рибофлавін (вітамін В<sub>2</sub>), холін (вітамін В<sub>4</sub>), пантотенова кислота (вітамін В<sub>5</sub>), піродоксин (вітамін В<sub>6</sub>), інозит (вітамін В<sub>8</sub>), цианкобаломін (вітамін В<sub>12</sub>), пангамова кислота (вітамін В<sub>15</sub>), фолієва кислота (вітамін В<sub>с</sub>), нікотинова кислота (вітамін РР),

біотин (вітамін Н), діофлавоноїди (вітамін Р), S – метил метіонін (вітамін U).

Більшість вітамінів в організмі не синтезується, а надходить із їжею, головним чином рослинною. Рослинна вітаміномістка сировина коштує тим, що концентрати з нього містять комплекс речовин, що підсилюють лікувальний ефект вітамінів.

Вітаміномісткі препарати випускають у рідких лікарських формах (масляні розчини, соки, концентрати, вітамінізовані бальзами, засоби для парентерального застосування), у твердій (збори для готування чаю, драже, таблетки, капсули). Різні сполучення вітамінів можуть входити до складу інших лікарських форм.

Більша частина вітамінних препаратів у цей час або є синтетичними речовинами, або являє собою натуральні продукти (наприклад, риб'ячий жир). Однак серед них є екстракційні препарати, одержувані з рослинної лікарської сировини. Це препарати плодів шипшини, незрілих плодів волоського горіха, хвої ялини й сосни, ягід чорної смородини, обліпихи й інших.

#### Комплексна переробка плодів шипшини

Плоди різних видів шипшини (троянди) містять різну кількість аскорбінової кислоти (від 0,1 % до 5,2 % на абсолютно суху масу плодів). З висушених плодів зі вмістом аскорбінової кислоти не нижче 1 % (1000 мг %) - троянди коричної, троянди голчастої, троянди даурской, троянди Беггера, троянди Федченко, одержують препарати аскорбінової кислоти. Плоди *Rosa canina* - троянди собачої (розповсюдженого на півдні виду), зі вмістом аскорбінової кислоти 0,1 - 0,2 %, використовують для виробництва холосаса.

Із плодів з низьким вмістом вітаміну С (до 1 %) одержують: 1) холосас; 2) масло м'якоті; 3) масло насіння шипшини.



Із плодів зі змістом аскорбінової кислоти більше 1 % одержують:  
1) препарати аскорбінової кислоти; 2) концентрат вітамінів групи Р; 3) каротиноїдний препарат; 4) концентрат вітаміну Е.

## **16.1 Промислова переробка плодів шипшини з низьким вмістом аскорбінової кислоти.**

### 16.1.1 Виробництво холосаса

Водну витяжку одержують із роздроблених плодів шипшини *Rosa canina* (зі змістом аскорбінової кислоти 0,3 - 0,5 %, але багатих флавоноїдами) у батареї із 12 екстракторів, що працюють за принципом протитоку. Витяжку фільтрують і піддають ферментації. Після бродіння й фільтрації витяжку упарюють до необхідної консистенції. Згущену витяжку фільтрують і подають на варіння холосаса у вакуум-апарат. Сюди ж завантажують розраховану кількість цукру. Після готування й стандартизації сиропу, готовий продукт фільтрують і передають на автоматичну лінію по розфасовці.

Холосас повинен містити не менш 1,85 % органічних кислот (у перерахуванні на яблучну кислоту). Вміст аскорбінової кислоти не регламентується. Застосовують при холециститах і гепатитах.

### 16.1.2 Одержання масла м'якоті

М'якоть плодів шипшини й насіння після одержання холосаса висушують до залишкової вологості не більше 7 %, відокремлюють м'якоть плодів від насіння за допомогою сепаратора.

Суха м'якоть далі може бути перероблена по трьох варіантах: 1) екстракцією рослинним маслом, 2) екстракцією органічним розчинником (діхлоретан, хлористий метилен) і 3) екстракцією зрідженими газами.

Якщо екстракцію ведуть маслом, то одержують масляний препарат каротолін (Carotolinum). Він являє собою маслянисту рідину жовтогарячого кольору зі специфічним запахом і смаком. Кислотне число не більше 3,5, а вміст каротиноїдів у перерахуванні на  $\beta$ -каротин не менш 1,2 г/л. Застосовують при трофічних виразках, екземах, атрофічних змінах слизових оболонок й ін.

Екстракцію сухої м'якоті діхлоретаном проводять у безперервно діючому вертикальному діючому екстракторі колонного типу. Після відгону екстрагенту у вакуум-апараті одержують каротиноїдний препарат у вигляді концентрату, що містить до 1,2 % каротиноїдів, що потім переводять у масляний розчин.

При екстрагуванні зрідженими газами (хладон 12) готують сировину до екстрагування шляхом подрібнення комбінованим способом (спочатку на молотковій або дискової, потім на валкової дробарках) до товщини пелюстка 0,1 - 0,2 мм. Отриманий після видалення екстрагента ліпофільний комплекс купажують соняшниковим маслом.

### 16.1.3 Одержання масла насіння шипшини (або концентрат вітаміну Е)

Із сухого насіння шипшини, відділених у сепараторі від м'якоті плодів після сушіння шроту (відходів виробництва холосаса) одержують масло шипшини - *Oleum Rose pinguae*. Воно містить насичені й ненасичені жирні кислоти, каротиноїди (каротин, лікопіни, кисеньмісткі каротиноїди), вітамін Е у вигляді токоферолів.

Масло шипшини може бути отримане за двома схемами: 1) екстрагуванням за допомогою органічних розчинників (хлористий метилен або діхлоретан); 2) екстрагуванням зрідженими газами.

#### Екстрагування органічними розчинниками

Сухі насіння, відділені від м'якоті, подрібнюють у вальцьових дробарках до порошку (розмір часток менш 0,25 мм). Екстрагування проводять в екстракторах з мішалкою, сорочкою й ложним днищем, на яке кріпиться фільтруюча тканина. Екстракцію хлористим метиленом (дихлоретаном) ведуть при постійному перемішуванні протягом 6 годин і температурі 30-35 °С. Після закінчення часу екстракції витяжку зливають, із сировини відганяють екстрагент (при температурі 45-50°C). Шрот відвантажують у відвал. Витяжку звільняють від розчинника й стеринів. Відгін екстрагента ведуть під вакуумом 480-490 мм. рт. ст. при температурі 30-35°C до 3/4 обсягу розчинника. Зі згущеного екстракту відокремлюють стерини. Для цього згущений екстракт витримують при температурі 10-12°C, при якій стерини переходять у твердий стан протягом 10 годин і центрифугують. Після чого вдруге згущають профільтрований екстракт, відганяючи 4/5 обсягу розчинника. Для видалення слідів хлористого метилена наприкінці відгону додають етиловий спирт, який повністю відганяють. При відповідності всім показникам масло шипшини відвільтовують на центрифугу і подають на розфасовку.

Готовий продукт - масляниста рідина бурого кольору із зеленуватим відтінком, гіркуватого смаку й специфічного запаху. Кислотне число не більше 5,5. Вміст суми каротиноїдів у перерахуванні на (β-каротин не менш 60 мг%, зміст α- і β- токоферолів не менш 0,4 г/л (400 мг%).

Препарат повинен витримувати випробування на чистоту - не містити слідів хлороформу, хлористого метилена, діхлоретану.

У випадку одержання масла шипшини зі вмістом суми каротиноїдів нижче вимог НТД у масло з розрахунку додають каротин мікробіологічний.

### Екстрагування зрідженими газами

Сухі насіння (з вологістю не більше 7 %), відділені від м'якоти, подрібнюють комбінованим способом (спочатку на молотковій або дискової, потім на валковій дробарках) до товщини пелюстка 0,1-0,2 мм. Проводять екстрагування зрідженим діхлордифторметаном - хладоном 12 протягом 3-х годин при температурі 18-25°C під тиском 4,5-5,5 кгс/см<sup>2</sup> при співвідношенні сировини до розчинника 1:5. Отриманий після видалення екстрагенту у виробництві масла шипшини продукт не купажується.

Готовий продукт *Oleum Rosae pinquae* повинен відповідати вимогам НТД. Застосовують при неглибоких тріщинах сосків у породілей, пролежнів і трофічних виразок, дерматозах (масляні пов'язки). Усередину застосовують при лікуванні виразкового коліту й дерматозах.

## **16.2 Промислова переробка плодів шипшини з високим вмістом аскорбінової кислоти**

### 16.2.1 Препарати аскорбінової кислоти

Після сортування цілі сухі плоди шипшини направляють в екстракційну батарею (або барабанний обертовий дифузор Гузенко), що працює за принципом протитока. Екстрагування ведуть гарячою водою при 70-75°C. Тривалість циклу батареї не повинна перевищувати 60 хв. За цей час одержують 10-кратну кількість витяжки з 6-8 % сухих речовин і до 95% аскорбінової кислоти. З витяжки видаляють пектинові речовини, додаючи сухий фермент пектиназу (*Aspergillus niger*) у кількості 1-1,2 %. Отриману витяжку фільтрують й упарюють до 50-55 % сухих речовин й 3-5 % аскорбінової кислоти. Цей нестійкий продукт

переробляють на: 1) сухий концентрат; 2) спиртоочищений рідкий концентрат; 3) сироп шипшини.

Із сирого гніта після екстракції одержують концентрат вітамінів групи Р.

#### Сухий концентрат

Водний концентрат висушують у розпилюючій сушарці. Тривалість сушіння 0,02-0,03 с. Сухий концентрат - порошок жовтуватого кольору, кислуватого смаку, зміст вологи не більше 7 %, аскорбінової кислоти не менш 2,2 %. Порошок гігроскопічний, тому його герметично пакують. Сухий концентрат використовують для одержання таблеток.

#### Спиртоочищений рідкий концентрат

Його одержують після обробки водного концентрату 96 % спиртом при температурі 60-65°C (при співвідношенні спирт: концентрат - 2:1). Осад, що утвориться, відокремлюють на фільтр-пресі, фільтрат упарюють і після охолодження розфасовують.

Препарат являє собою рухливу рідину темно-бурого кольору, кислого смаку, що містить не менш 2,2 % аскорбінової кислоти й не менш 65 % сухих речовин. Зберігається при температурі не вище 12°C (при більш високій температурі можливе бродіння). Строк зберігання 4 місяці.

#### Сироп шипшини (Sirupus fructi Rosae)

Одержують з водного концентрату й інвертованого цукрового сиропу (для стабілізації аскорбінової кислоти). В емальованому реакторі з паровою сорочкою змішують цукровий пісок, воду й лимонну кислоту (або винну) при температурі 90°C протягом 30-40 хвилин. За цей час близько 30 % цукру інвертується. Інвертований цукор фільтрують, змішують із концентратом шипшини й подають на розфасовку (по 100 й 200 г).

Препарат являє собою червоно-коричнюву сиропоподібну рідину без зважених часток, солодкого смаку із запахом плодів шипшини. Сухих речовин 71-73 %, аскорбінової кислоти не менш 1 мг/мл, цукру не менш 50%, щільність 1,37. Зберігати при температурі не вище 21 °С.

### 16.2.2 Концентрат вітамінів групи Р

Сирий гніт, що залишається при одержанні концентрату вітаміну С (з вологістю 68-73%) подають на вторинну екстракцію в апарат Гузенко. Екстракція проводиться протягом 1,5-2 годин майже киплячою водою (98-99°C). Отриману витяжку фільтрують і згущають до 30-40 % сухих речовин. Потім сушать у вакуум-вальцьовій сушарці. Тривалість сушіння 8-10 с. Отриманий порошок, що містить 20-22 % речовин, що володіє Р-вітамінною активністю. Із цього порошку готують таблетки по 0,5 м зі змістом 25 мг вітаміну Р.

### 16.2.3 Каротинноідний препарат. Каротолін

Гніт, що залишився після вторинної екстракції в апараті Гузенко, висушують у барабанній сушарці до 6-8 % вологи. У сухому гніті каротиноїди не стійки, тому він негайно надходить у сепаратор, де його розділяють на м'якоть і насіння. Суха м'якоть далі може бути перероблена по трьох схемах:

1) Екстракцією рослинним маслом; 2) екстракцією органічними розчинниками; 3) екстракцією зрідженими газами.

Якщо екстракцію ведуть маслом, то одержують препарат каротолін (Carotolinum).

Якщо екстракцію сухої м'якоті проводять органічним розчинником, то одержують концентрат каротиноїдів.

#### 16.2.4 Концентрат вітаміну Е (масло насіння шипшини)

Відділені від м'якоті насіння надходять у дробарку й далі ведуть переробку за двома схемами: 1) Екстрагування за допомогою органічних розчинників; 2) екстрагування зрідженими газами.

*Контрольні питання до теми Т16.*

1. Що таке вітаміни і де вони використовуються?
2. Класифікація вітамінів?
3. Які препарати одержують при переробці плодів шипшини?
4. З яких апаратів складається виробнича лінія одержання вітамінних препаратів на основі переробки рослинної сировини?

### **Тема Т17. Тверді лікарські форми пролонгованої дії.**

#### **Мікрокапсулювання лікарських речовин**

Тверді лікарські форми пролонгованої дії вивільняють в організмі лікарські речовини протягом тривалого часу, а деякі із цих препаратів мають заздалегідь запрограмовані швидкість й тривалість вивільнення.

Підтримка концентрації лікарської речовини в організмі на певному постійному рівні має важливе значення для лікування таких захворювань, як стенокардія, діабет, гормональні порушення й ін. У зв'язку із цим створення й виробництво різних лікарських форм пролонгованої дії в цей час досить актуально.

До твердих лікарських форм пролонгованої дії відносять наступні види:

- таблетки, гранули, драже; об капсули, мікрокапсули;
- парентеральні імпланти;
- терапевтичні системи;
- системи із саморегулюючим вивільненням лікарських речовин.

Більш докладно зупинимося на технології одержання мікрокапсул.

Мікрокапсулювання - технологічний процес покриття невеликих кількостей твердих, рідких і газоподібних речовин тонкою оболонкою плівкоутворювальної речовини різної природи.

Мікрокапсули являють собою окремі частки сферичної або округлої форми діаметром від 5 до 5000 мкм (частіше 100-500 мкм), покриті тонкою оболонкою плівкоутворювального матеріалу різної природи. Частки менш 1 мкм називаються нанокапсулами й призначаються для парентерального введення.

Вміст мікрокапсул (внутрішня фаза або ядро) може становити 15-99 % їхньої маси. Ця величина може коливатися залежно від методу й умов одержання (температури, ступеня диспергування, в'язкості середовища, наявності поверхнево-активних речовин), співвідношення кількостей матеріалу оболонок й інкапсульованої речовини й т.п. Внутрішня фаза може являти собою індивідуальну речовину, суміші, дисперсії або розчини речовин.

У фармацевтичній промисловості мікрокапсулювання знайшло широке застосування. З його допомогою стабілізують нестійкі препарати (вітаміни, антибіотики, вакцини, сироватки, ферменти), маскують смак і запах лікарських речовин (касторове масло, риб'ячий жир, екстракт алое, кофеїн, хлорамфеникол, бензедрин), перетворюють рідини в сипучі продукти, регулюють швидкість вивільнення або забезпечують вивільнення біологічно активної речовини в потрібній ділянці ШКТ, ізолюють несумісні речовини, поліпшують сипкість, створюють нові типи продуктів діагностичного призначення.

Товщина оболонки коливається від 0,1 до 200 мкм і може бути одношарової або багатшаровою, еластичною або твердою, з різною стійкістю до впливу води, органічних розчинників і т.ін. Вибір



матеріалу оболонки залежить від призначення, властивостей і способу вивільнення ядра, а також від обраного методу мікрокапсулювання.

Ці ж фактори визначають і будова мікрокапсул. У цей час виділяють наступні основні типи мікрокапсул:

1. З однією оболонкою.

2. З подвійною або багат шаровою оболонкою. Якщо матеріал оболонки за якимись причинами не може бути нанесений безпосередньо на капсулюєму речовину, то роблять проміжне мікрокапсулювання цієї речовини зручним методом в інший матеріал. Утворююча оболонка має двошарову структуру.

3. "Капсула в капсулі".

4. Емульсія в мікрокапсулі або мікрокапсули в рідкому середовищі в загальній оболонці. При необхідності висновку речовин у загальну оболонку можливе виготовлення "капсул у капсулі", коли усередині зовнішньої оболонки в середовищі однієї з речовин поміщена одна або кілька мікрокапсул іншої речовини.

Залежно від призначення й властивостей мікрокапсулюємих речовин відомі 3 варіанти проникності оболонки мікрокапсул:

- непроникна для ядра й навколишнього середовища;
- напівпроникна;
- проникна для ядра.

Вивільнення лікарських речовин з мікрокапсул значною мірою визначається не тільки обраним матеріалом і проникністю оболонки, але й способом мікрокапсулювання. Останні можна розділити на три основні групи: фізичні, фізико-хімічні й хімічні.

Суть фізичних методів мікрокапсулювання полягає в механічному нанесенні оболонки на тверді або рідкі частки лікарської речовини. До фізичних методів відносяться методи напилювання в псевдожиженому шарі або у вакуумі, розпиленням, дражируванням, диспергуванням й ін.

Фізико-хімічні методи мікрокапсулювання засновані на розділі фаз і відрізняються простою апаратурою, високою продуктивністю, можливістю міститися в оболонці лікарської речовини в будь-якому агрегатному стані (тверда речовина, рідина, газ), дозволяють одержувати мікрокапсули різних розмірів і із заданими властивостями, а також використовувати винятково різноманітний асортимент плівкоутворювачів й одержувати плівки з різними фізико-хімічними властивостями (різної товщини, пористості, еластичності, розчинності й ін.). При одержанні мікрокапсул цими методами лікарська речовина диспергує у розчині або розплаві плівкоутворювальної речовини.

Хімічні методи капсулювання засновані на утворенні захисних покриттів навколо ядер мікрокапсулюємої речовини в результаті полімеризації або поліконденсації плівкоутворювальних компонентів.

Варто підкреслити, що така класифікація, в основу якої покладена природа процесів, що протікають при мікрокапсулюванні, досить умовна, оскільки на практиці часто використовується сполучення різних методів.

Якість отриманих мікрокапсул оцінюють по наступних параметрах:

- визначення органолептичних показників;
- визначення фракційного складу;
- визначення насипної маси;
- визначення сипкості;
- визначення відносної щільності;
- визначення швидкості вивільнення вмісту з мікрокапсул;
- визначення якісного й кількісного змісту БАР.

У цей час діапазон областей практичного використання мікрокапсульованих препаратів дуже великий - від медицини до космічних досліджень. У медицині самі мікрокапсули, як лікарська форма, використовують вкрай рідко, однак їх часто включають до складу інших лікарських форм. На основі мікрокапсул виготовляють такі лікарські форми, як емульсії, суспензії, мазі, супозиторії, капсули, препарати для парентерального застосування. Тривають дослідження з використання мікрокапсул в ін'єкційних й очних формах, в імплантаційних таблетках й в інших лікарських системах пролонгованої дії.

*Контрольні питання до теми Т17.*

- 1. Що таке тверді лікарські форми пролонгованої дії?*
- 2. Які тверді лікарські форми відносяться до форм пролонгованої дії?*
- 3. Що таке мікрокапсулювання?*
- 4. Назвіть основні типи мікрокапсул.*
- 5. За якими параметрами оцінюють якість отриманих мікрокапсул?*

### Перелік рекомендованої літератури

1. Биотехнология: Учеб. пособие для вузов. В 8 кн./ Под ред. Н.С. Егорова, В.Д. Самуилова. Кн. 6: микробиологическое производство биологически активных веществ и препаратов/ Быков В.А., Крылов И.А., Манаков М.Н. и др. – М.: Высш. шк., 1987. – 143 с.: ил.
2. Общая технология микробиологических производств. / М.С.Мосичев, А.А.Складнев, В.Б.Котов. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1982 – 264 с.
3. Кантере В.М. Теоретические основы технологии микробиологических производств. – М.: Агропромиздат, 1990. – 227с.
4. Манаков М.Н., Победимский Д.Г. Теоретические основы технологии микробиологических производств. – М.: Агропромиздат, 1990 – 227с..
5. Биотехнология: Биологические агенты, технология, аппаратура / У.Э.Виестур, И.А.Шмите, А.В.Жилевич – Рига: Зинатне, 1987. – 263 с.
6. І.В. Бондар, В.М. Гуляев Промислова мікробіологія Харчова і агробіотехнологія. Навчальний посібник для студентів спеціальності 7.092901 – “Промислова біотехнологія.”. Дніпродзержинськ, видавництво ДДТУ, 2004. – 280 стор.
7. Баксаньян И.А. Культивирование микроорганизмов с заданными свойствами. – М.: Медицина, 1992.
8. Безбородов А.М. Биотехнология продуктов микробного синтеза – М.: ВО «Агропромиздат», 1991. -320 с..
9. Гапонов К.П. Процессы и аппараты микробиологических производств.- М.: Легкая и пищевая промышленность, 1981.-240.

Навчальне видання

Конспект лекцій з дисципліни „Технологія біологічно - активних речовин” для студентів денної та заочної форм навчання напряму 6.051401 „Біотехнологія”

Укладач: Філімоненко О.Ю.

Підписано до друку \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

Формат \_\_\_\_\_ Обсяг \_\_\_\_\_

Тираж \_\_\_\_\_ екз. Заказ \_\_\_\_\_

51918, м. Дніпродзержинськ, вул. Дніпробудівська, 2