

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ
Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій
Кафедра біотехнології, шкіри та хутра

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
на тему:
«Технологія біосинтезу триптофану»

Рівень вищої освіти перший (бакалаврський)
Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія
Освітня програма Біотехнологія

Виконала: студентка групи ББТ-21
Головач І. С.
Науковий керівник:
к.т.н., доц. Охмат О.А.
Рецензент:
к.т.н., доц. Волошина І.М.

Київ 2025

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

Факультет	<u>хімічних та біофармацевтичних технологій</u>
Кафедра	<u>біотехнології, шкіри та хутра</u>
Рівень вищої освіти	<u>перший (бакалаврський)</u>
Спеціальність	<u>162 Біотехнології та біоінженерія</u>
Освітня програма	<u>Біотехнологія</u>

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри БШХ

_____ Олена МОКРОУСОВА

«___» _____ 2025 р.

**ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ СТУДЕНТУ**

Головач Іванні Сергіївні

1. Тема кваліфікаційної роботи: **Технологія біосинтезу триптофану**
науковий керівник роботи Охмат Олена Анатоліївна, к.т.н., доц.
затверджені наказом КНУТД від «05» березня 2025 року № 50-уч.
2. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи: завдання на кваліфікаційну роботу; наукова та технічна література щодо технології біосинтезу триптофану; технологічні схеми промислового отримання триптофану; матеріали переддипломної практики.
3. Зміст кваліфікаційної роботи: техніко-економічне обґрунтування, обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва, характеристика біологічного агента, опис технологічної схеми, контроль якості, висновки, список використаних джерел, додаток.
4. Дата видачі завдання 05.03.2025 р.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапу кваліфікаційної роботи	Орієнтовний терміни виконання	Примітка про виконання
1	Вступ	20.05.2025	
2	Розділ 1 Техніко-економічне обґрунтування	30.03.2025	
3	Розділ 2 Обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва	30.04.2025	
4	Розділ 3 Характеристика біологічного агента	30.04.2025	
5	Розділ 4 Опис технологічної схеми	15.05.2025	
6	Розділ 5 Контроль якості	20.05.2025	
7	Висновки	22.05.2025	
8	Оформлення кваліфікаційної роботи (чистовий варіант)	02.06.2025	
9	Подача кваліфікаційної роботи науковому керівнику для відгуку	04.06.2025	
10	Подача кваліфікаційної роботи для рецензування (за 14 днів дозахисту)		
11	Перевірка кваліфікаційної роботи на наявність ознак плагіату (за 10 днів до захисту)		Коефіцієнт подібності ____% Коефіцієнт цитування ____%
12	Подання кваліфікаційної роботи на підпис завідувачу кафедри (за 7 днів до захисту)		

З завданням ознайомлений:

Студент _____ Іванна ГОЛОВАЧ

Науковий керівник _____ Олена ОХМАТ

АНОТАЦІЯ

Головач І. С. Технологія біосинтезу триптофану – Рукопис.

Кваліфікаційна робота за спеціальністю 162 Біотехнологія та біоінженерія. – Київський національний університет технологій та дизайну, Київ, 2025 рік.

Кваліфікаційну роботу присвячено розробці технології біосинтезу триптофану за умови культивування продуцента *E. coli* TRTH0709.

У роботі представлений обґрунтований вибір та характеристика біологічного агента – штаму *E. coli*, обґрунтовано вибір технологічного обладнання для реалізації біосинтезу триптофану, наведені основні технологічні параметри. Представлені розрахунки визначення обсягів виробництва цільового продукту та реалізації технологічної схеми. Технологічна схема біосинтезу триптофану включає стадії допоміжних робіт, технологічного процесу та знешкодження відходів із зазначенням методик контролю якості для відповідних етапів виробництва.

Ключові слова: *триптофан, E. coli* TRTH0709, біосинтез, контроль якості, культивування.

					КР.ПЗ.162.03			
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата	АНОТАЦІЯ			
Розробив	Головач І.С.							
Перевірив	Охмат О.А.							
Н.Контр.								
Затвердив								
					Літ.	Аркуш	Аркушів	
					Д	4	1	
					КНУТД, ББТ-21			

ABSTRACT

Holovach I.S. Technology of tryptophan biosynthesis – Manuscript.

Qualification work on specialty 162 Biotechnology and bioengineering. – Kyiv National University of Technologies and Design, Kyiv, 2025.

The qualification work is devoted to the development of tryptophan biosynthesis technology under the condition of cultivating the producer *E. coli* TRTH0709.

The work presents a justified choice and characterization of the biological agent - the *E. coli* strain, justifies the choice of technological equipment for the implementation of tryptophan biosynthesis, and gives the main technological parameters. Calculations are presented to determine the production volumes of the target product and the implementation of the technological scheme. The technological scheme of tryptophan biosynthesis includes stages of auxiliary work, technological process and waste disposal with an indication of quality control methods for the relevant stages of production.

Key words: *tryptophan, E. coli* TRTH0709, *biosynthesis, quality control, cultivation.*

					КР.ПЗ.162.03			
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата	ABSTRACT	Літ.	Аркуш	Аркушів
Розробив		Головач І.С.				Д	5	1
Перевірів		Охмат О.А.				КНУТД, ББТ-21		
Н.Контр.								
Затвердив								

ЗМІСТ

ВСТУП.....	8
РОЗДІЛ 1 ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ.....	10
1.1 Характеристика триптофану.....	10
1.1.1 Фізико-хімічні властивості триптофану.....	11
1.1.2 Застосування триптофану.....	11
1.2 Потреба у цільовому продукті.....	12
1.3 Розрахунок потужності виробництва.....	13
1.3.1 Розрахунок кількості триптофану для забезпечення хворих на депресію пацієнтів.....	13
1.3.2 Розрахунок потужності виробництва триптофану з <i>E. coli</i> TRTH0709.....	14
1.4 Розрахунок кількості виробничих циклів для отримання річної потреби в цільовому продукті та геометричний об'єм ферментера.....	15
Висновки до розділу 1.....	16
РОЗДІЛ 2 ОБҐРУНТУВАННЯ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ.....	17
2.1 Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування.....	17
2.2 Обґрунтування способу проведення біосинтезу.....	24
2.2.1 Обґрунтування вибору ферментатора.....	24
2.2.2 Обґрунтування вибору стадії підготовки аераційного повітря.....	27
2.2.3 Обґрунтування вибору дезінфекційних засобів та методу дезінфекції.....	27
2.3 Розрахунок кількості необхідних стадій підготовки посівного матеріалу з наведенням складу поживного середовища.....	30

					КР.ПЗ.162.03			
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата				
Розробив		Головач І.С.			ЗМІСТ	Літ.	Аркуш	Аркушів
Перевірив		Охмат О.А.				Д	6	2
Н.Контр.						КНУТД, ББТ-21		
Затвердив								

2.3.1 Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу.....	30
2.3.2 Розрахунок кількості посівного матеріалу для вирощування культури в інокуляторі на 200 л.....	30
2.3.3 Розрахунок кількості посівного матеріалу для вирощування культури в колбах на качалці.....	31
2.4 Обґрунтування способу приготування і стерилізації поживного середовища для одержання інокуляту і виробничого біосинтезу.....	31
Висновки до розділу 2	35
РОЗДІЛ 3 ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА.....	36
3.1 Таксономічний статус.....	36
3.2 Морфолого-культуральні властивості.....	36
3.3 Фізіолого-біохімічні властивості.....	37
Висновки до розділу 3.....	37
РОЗДІЛ 4 ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ.....	38
Висновки до розділу 4.....	51
РОЗДІЛ 5 КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ.....	52
5.1 Методи контролю якості триптофану.....	55
5.2 Методи контролю проведення стадій біосинтезу.....	52
Висновки до розділу 5.....	53
ВИСНОВКИ.....	54
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	55
ДОДАТКИ.....	58

ВСТУП

Актуальність. Оскільки триптофан є попередником серотоніну, також відомого як гормон, який відповідає за антидепресантну дію на організм, то триптофан вважається натуральним антидепресантом, а тому потреба у виробництві триптофану існуватиме завжди. Психічне здоров'я людини має таке ж велике значення, як і фізичне здоров'я, а через те, що в Україні на даний момент триває війна з росією, то потреба у знятті тривожності та нав'язливих думок є великою.

Мета. Використання штаму *E. coli* TRTH0709P для реалізації технології біосинтезу триптофану.

Завдання роботи:

1. аналіз статистики захворюваності на депресію в Україні,
2. вивчення теоретичних аспектів реалізації ефективної технології біосинтезу триптофану,
3. розрахунок потужності виробництва цільового продукту,
4. обґрунтування стадій технологічного процесу та допоміжних робіт,
5. визначення методів контролю на усіх етапах біосинтезу.

Об'єкт дослідження – продуценти для біосинтезу триптофану.

Предмет дослідження – технологія біосинтезу триптофану за допомогою штаму *E. coli* TRTH0709.

Методи дослідження. У кваліфікаційній роботі використано методи добору та аналізу наукової та технічної літератури; розрахункові методи.

Новизна отриманих результатів – використання особливостей геному штаму *E. coli* TRTH0709 для збільшення кількості синтезованого триптофану в процесі його біосинтезу.

					КР.ПЗ.162.03				
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата					
Розробив		Головач І.С.			ВСТУП		Літ.	Аркуш	Аркушів
Перевірив		Охмат О.А.					Д	8	2
							КНУТД, ББТ-21		
Н.Контр.									
Затвердив									

Практичне значення отриманих результатів – забезпечення нормального синтезу сполук серотоніну та мелатоніну для покращення емоційного та психічного стану населення.

Апробація наукових результатів відбулась через участь у роботі V Міжнародної науково-практичної конференції «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології» (НФаУ, Харків, 28 березня 2025 р.) (додаток А).

Публікації. Головач І. С., Волошина І. М. Роль L-триптофану у покращенні продуктивності росту та розвитку сільськогосподарських культур. *Проблеми та досягнення сучасної біотехнології* : матеріали V Міжнар. наук.-практ. конф. (Харків, 28 березня 2025 року). Харків : НФУ, 2025. С. 158–159 (додаток Б).

Структура і обсяг роботи. Кваліфікаційна робота має обсяг основної частини 54 аркуші та має такі частини, як вступ, 5 розділів, висновки, список використаної літератури, який налічує 28 першоджерел, додатки. Графічна частина містить технологічну схему, зображену на аркуші формату А1.

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		9

РОЗДІЛ 1

ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ

1.1 ХАРАКТЕРИСТИКА ТРИПТОФАНУ

Триптофан – незамінна амінокислота, що містить α -аміногрупу, групу α -карбонової кислоти та гетероциклічну сполуку індол (рис. 1.1).

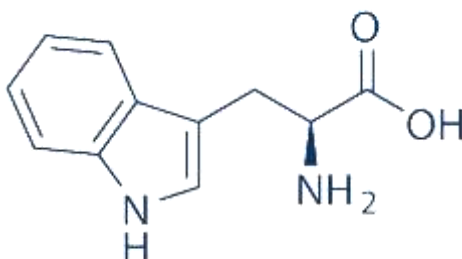


Рисунок 1.1 – Структурна формула триптофану

Основна функція триптофану полягає у регуляції синтезу білка, зокрема він є попередником кінуреніну, мелатоніну, вітамінів групи В (ніацину, піридоксину) та серотоніну. Триптофан виконує антидепресантну, заспокійливу та метаболічну функцію людини, рослин та деяких мікроорганізмів. Триптофан не синтезується в організмі людини, а потрапляє в організм екзогенно. Триптофан міститься у молочних продуктах, м'ясі, рибі, шоколаді тощо [1].

Триптофан зустрічається у L- та D-ізомерних формах, проте саме L-триптофан зустрічається у вищих організмах, наприклад, в організмі людини. Загальна концентрація триптофану в тілі людини є найнижчою серед усіх амінокислот, причому добова доза амінокислоти з харчовими продуктами становить від 900 до 1000 мг на день. Рекомендована доза триптофану становить від 3,5 до 6,0 мг/кг маси тіла в день [3].

					КР.ПЗ.162.03		
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 1. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ		
Розробив	Головач І.С.						
Перевірів	Охмат О.А.						
Н.Контр.							
Затвердив					Літ. Аркуш Аркушів Д 10 7 КНУТД, ББТ-21		

Синтез триптофану відбувається шляхом реакції ферментації індолу, гліцину і формальдегіду у присутності відповідних ферментів, як от триптофансинтаза. Для цієї реакції використовують таке поживне середовище, яке містить вуглець, азот та неорганічні солі – м'ясний екстракт, дріжджовий екстракт – ферментація відбувається в умовах присутності кисню. Процес реакції відбувається за рахунок розкладання утвореного l-серину наступними продуцентами: *Escherichia coli* K-12, *Corynebacterium glycinophilum* ATCC 21341, *Brevibacterium flavum* MJ-233 та ін. [25].

У промислових масштабах використовується мікробна ферментація за умови використання *E. coli*, *S. cerevisiae* або *C. glutamicum* [13].

Триптофан легко всмоктується у кишково-шлунковому тракті людини та виводиться з організму із сечею [3].

1.1.1 Фізико-хімічні властивості триптофану

Триптофан це білий порошок з однорідним смаком, без запаху. Неполарна, гідрофобна амінокислота, температура плавлення 290 °С, розчинність у воді дорівнює 11,4 г/л при 25 °С. Ізоелектрична точка триптофану – 5,89 [1].

1.1.2 Застосування триптофану

Лікарський засіб на основі L-триптофану використовується для лікування безсоння, депресії, тривоги, оскільки триптофан бере участь у секреції серотоніну та мелатоніну, які діють у головному мозку. Також триптофан використовується при лікуванні передменструального дисфоричного розладу, апное під час сну, синдрому дефіциту уваги та гіперактивності [3]. У комплексі з літієм, триптофан використовується для лікування біполярного розладу [6]. Лікарська форма триптофану буває у таблетках та капсулах.

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		11

1.2 Потреба у цільовому продукті

Не зважаючи на те, що відсоток триптофану в організмі на порядок менший, у порівнянні з іншими незамінними амінокислотами, потреба у триптофані є напрочуд високою. Найбільш поширене клінічне застосування триптофану виявляється при лікуванні важкої депресії, оскільки у пацієнтів з депресією виявлено низький вміст триптофану, що може викликати погіршення настрою, аналогічно як і при дотриманні дієти з низьким вмістом триптофану. Це пов'язано з тим, що триптофан є попередником нейроактивних сполук серотоніну та мелатоніну, які регулюють циркадні ритми організму та впливають на основні адаптивні реакції людини, наприклад, на пізнання, концентрацію, агресивність, імпульсивність, лібідо, харчову поведінку тощо [2].

Триптофан також відповідає за синтез нікотинової кислоти та нікотинаміду, останній з яких в свою чергу перетворюється на NAD⁺ та NADPH, які підтримують хімічну рівновагу та беруть участь у регуляції сигнальних шляхів та клітинного метаболізму [9].

У деяких країнах лікувальні засоби з триптофаном є вилученими з ринку, обмеженими або продаються виключно з рецептом, у зв'язку з тим, що триптофан може викликати або посилювати еозинофілію та фіброміалгію [3]. Це викликано тим, що вживання лікувальних засобів на основі триптофану може погіршувати метаболічні перетворення серотоніну, мелатоніну та кінуреніну, що впливає на обмін триптофану в організмі [8].

В Україні триптофан застосовується як дієтична добавка. Її можуть купувати від тривожності, депресії, безсоння тощо. Продається без рецепта.

Харчове споживання триптофану на добу становить від 900 до 1000 мг, в той час, як його медикаментозне споживання становить від 250 до 425 мг, що дорівнює приблизно 3,5-6,0 мг/кг маси тіла [3].

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		12

1.3 Розрахунок потужності виробництва

1.3.1 Розрахунок кількості триптофану для забезпечення хворих на депресію пацієнтів

Дозування триптофану та період його вживання залежить від мети його споживання, зокрема він може застосовуватися для покращення сну, зменшення тривожності, полегшення симптомів депресії, а також для підтримки нормального рівня серотоніну при сезонному афективному розладі чи передменструальному синдромі [2]. У разі дефіциту триптофану його застосування може сприяти зниженню дратівливості та втомлюваності [3]. У розрахунках зупинимося на депресії як ключовому показнику, оскільки через війну в Україні багато людей страждають від її симптомів. У таких умовах виробництво 5-НТР з l-триптофану набуває особливої актуальності, адже ця добавка може допомогти покращити емоційний стан та якість життя людей.

Розрахуємо кількість сировини l-триптофану, яка використовуватиметься для виробництва харчової добавки 5-НТР, яку використовують для зменшення симптомів депресії. Триптофан найчастіше вживається як антидепресант або засіб для покращення сну в кількості від 3,5 до 6,0 мг/кг на добу. Для розрахунків добового дозування візьмемо середній показник у 4,75 мг/кг. Враховуючи, що середня вага дорослої людини 75 кг, розрахуємо добову кількість триптофану: $N_{try} = 4,75 \cdot 75 = 356,25$ мг

Оскільки курс лікування антидепресантами триває у середньому 26 тижнів [11], розрахуємо кількість триптофану на одну людину в рік:

$$N_{try/pik} = 26 \cdot 7 \cdot 356,25 = 64837,5 \text{ мг}$$

Згідно зі статистикою захворювання на депресію у світі, Україна посідає перше місце станом на 2024 р. Кількість населення України, що використовує триптофан та страждає на депресію згідно статистичних даних становить 6,3 % [10]. Враховуючи, що у місті Києві станом на 1 лютого 2022 року кількість населення складає 2,9 млн [12]. Розрахуємо приблизну кількість людей у місті Києві, які страждають на депресію:

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
						13
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

$$N_{\text{хв.}} = 2\,900\,000 \cdot 0,063 = 182\,700 \text{ осіб}$$

Перерахуємо скільки потрібно триптофану, щоб забезпечити усіх, хто його вживає. Тоді кількість триптофану становитиме:

$$N_{\text{вж.}} = 182\,700 \cdot 1 = 182\,700 \text{ осіб}$$

Звідси випливає, що приблизна річна потреба у триптофані становить:

$$\Pi = 182\,700 \cdot 64837,5 = 11\,845,8 \text{ кг}$$

Отже, щоб забезпечити населення, що страждає на депресію та проходить курс лікування триптофаном, на рік необхідна кількість триптофану має становити 11845,8 кг.

Проте варто зазначити, що виробництвом харчової добавки на основі триптофану в Україні вже займаються кілька фармакологічних компаній, що означає, що вони покривають певний попит на лікарські засоби на основі триптофану. Тому візьмемо третю частину необхідної кількості субстанції:

$$11\,845,8 / 4 = 2\,961,4 \text{ кг}$$

1.3.2 Розрахунок потужності виробництва триптофану з *E. coli* TRTH0709

Відомо, що за 40 год бактерія *E. coli* TRTH0709 синтезує 35,9 г/л триптофану [13].

Розрахуємо об'єм культуральної рідини, необхідний для отримання 2961,4 кг триптофану:

$$V_{\text{кр}0} = 2961400 \text{ г} / 35,9 \text{ г/л} = 82490,2 \text{ л або } 82,4 \text{ м}^3$$

Оскільки сумарні втрати цільового продукту при виробництві становлять 20 %, то необхідна кількість культуральної рідини приблизно дорівнює:

$$V_{\text{кр}} = 82490,2 / (1 - 0,2) = 103112,75 \text{ л або } 103,12 \text{ м}^3$$

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
						14
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

1.4 Розрахунок кількості виробничих циклів для отримання річної (замовленої) потреби в цільовому продукті та геометричний об'єм ферментер

Для наступних розрахунків враховуватимемо значення, розраховані у п. 1.3.

Оскільки кількість робочих днів становить 330, тоді кількість продукту на добу становитиме:

$$V_d = V_{кр} / T_{рд} = 103112,75 / 330 \approx 312,4 \text{ л}$$

Розрахуємо кількість виробничих циклів впродовж року:

$$N_{ц} = V_{кр} / ((V_d \cdot T_{цф}) / 24) = 103112,75 / ((312,4 \cdot 54) / 24) = 146,6 \approx 147,$$

де $T_{цф}$ – цикл роботи ферментера (мийка та огляд – 1,5 год, перевірка на герметичність – 0,5 год, підігрів та стерилізація апарату – 1,5 год, охолодження ферментера – 0,5 год, завантаження поживного середовища – 1,5 год, засів культурою – 0,5 год та ферментація – усього 10 год).

Розрахуємо кількість культуральної рідини за один цикл:

$$V_{крц} = K_1 \cdot V_d \cdot T_{цф} / 24 = 1,1 \cdot 312,4 \cdot 16 / 24 \approx 229 \text{ л},$$

де K_1 – коефіцієнт запасу, що враховує можливість нестерильних операцій.

Геометричний об'єм ферментера, що потрібний для отримання 747,8 л культуральної рідини з коефіцієнтом заповнення 0,6, розраховуємо таким чином:

$$V_{Г} = V_{крц} / K_{зап} = 229 / 0,6 \approx 381 \text{ л} = 0,381 \text{ м}^3 (\approx 0,5 \text{ м}^3),$$

де $K_{зап}$ – коефіцієнт заповнення ферментера.

						Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

Висновки до розділу 1

Отже, згідно з актуальною статистикою в Україні, за останні роки чисельність тих, хто скаржиться на такі симптоми депресії, як тривожність, поганий сон, відсутність апетиту збільшилася. Це пов'язано з багатьма факторами, найголовніший з яких це війна, яка спричиняє інші побічні фактори, наприклад, розділення сімей, втрата близьких, поганий сон через нічні атаки тощо.

При лікуванні депресії та для поліпшення стану людини можуть використовуватися різноманітні вітаміни, гормони та антидепресанти. Оскільки триптофан впливає на синтез гормону «щастя» серотоніну та приймається у випадку тривожності чи інших депресивних симптомів, то виробництво триптофану є важливим у боротьбі з депресією та покращенням емоційного стану населення України.

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
						16
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

РОЗДІЛ 2

ОБҐРУНТУВАННЯ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ

2.1 Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування

Для синтезу триптофану використовують такі методи, як хімічний синтез, пряме бродіння та ферментативне перетворення, однак у промисловості використовують саме мікробну ферментацію за умови використання таких бактерій, як *Escherichia coli*, *Corynebacterium glutamicum*, та рідше – *Pediococcus acidilactici* [13].

Синтез триптофану проходить у багатьох етапах ланцюга біохімічних реакцій всередині клітини продуцента. Все починається з глюкози, яка є основним джерелом вуглецю. Спочатку шляхом гліколізу глюкоза перетворюється на глюкозо-6-фосфат, який дає початок пентозофосфатному шляху (PEP). Пізніше, через проміжні метаболіти утворюється гліцеральдегід-3-фосфат, який дає початок вихідним субстратам шляху шікімової кислоти, яка є субстратом для синтезу ароматичних амінокислот, в тому числі l-триптофану. У низці ферментативних реакцій шляху шікімової кислоти (SHIK) утворюється хоризмат (CHO), що пізніше утворює індол-3-гліцеролфосфат, з якого вже утворюється сполука l-триптофан [4].

Враховуючи кількість етапів та складність біохімічних реакцій, не є несподіванкою, що велика кількість енергії може витрачатися у проміжних етапах або можуть утворюватися подібні до триптофану сполуки, наприклад, тирозин або фенілаланін. Ці чинники можуть слугувати основними факторами гальмування мікробного біосинтезу l-триптофану.

					КР.ПЗ.162.03		
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата			
Розробив	Головач І.С.				РОЗДІЛ 2. ОБҐРУНТУВАННЯ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ	Літ.	Аркуш
Перевірів	Охмат О.А.					Д	17
							19
Н.Контр.						КНУТД, ББТ-21	
Затвердив							

Тому перед безпосереднім початком мікробного біосинтезу важливо обрати оптимальний штам мікроорганізму, поживне середовище, методи культивування тощо.

Для того, щоб забезпечити найефективніший синтез L-триптофану за допомогою мікробного синтезу необхідно порівняти різні продуценти.

У табл. 2.1.1 наведені дані про різні штами, склад поживного середовища, кількість продукту, тривалість процесу синтезу та особливості технологічного процесу.

Таблиця 2.1.1

Поживні середовища для культивування штамів *Corynebacterium glutamicum* ATCC 2185, *Pediococcus acidilactici* TP-6, *Escherichia coli* TRTH0709, *Escherichia coli* GPT1002 для одержання триптофану

Біологічний агент	Склад поживного середовища, г/л	Кількість продукту, г/л	Тривалість процесу, год	Особливості технологічного процесу	Використана література
<i>Corynebacterium glutamicum</i> ATCC 2185	Цукровий екстракт Глюкоза – 20 (NH ₄) ₂ SO ₄ – 5,0 KH ₂ PO ₄ – 2,0 MgSO ₄ ·7H ₂ O – 0,5	11,5	48	30-37°C pH 7-7,5 інтенсивність перемішування 220 об/хв	[16]
<i>Pediococcus acidilactici</i> TP-6	М'ясний екстракт – 5,0 Пептон – 10,0 Натрію	22,94	48	30-37°C pH 6-6,5 низька інтенсивність перемішування	[15]

Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата	КР.ПЗ.162.03	Аркуш
-----	-------	-------------	--------	------	--------------	-------

Біологічний агент	Склад поживного середовища, г/л	Кількість продукту, г/л	Тривалість процесу, год	Особливості технологічного процесу	Використана література
	хлорид (NaCl) – 5,0 Фосфат калію (KH ₂ PO ₄) – 0,5				
<i>Escherichia coli</i> TRTH0709	Глюкоза – 20 (NH ₄) ₂ SO ₄ (сульфат амонію) – 4 Дріжджовий екстракт – 1 KH ₂ PO ₄ (монофосфат калію) – 2 MgSO ₄ ·7H ₂ O (сульфат магнію) – 5 Цитрат натрію – 2 FeSO ₄ ·7H ₂ O – 0,1	35,9	40	37-39°C рН 6,8-7,4 інтенсивність перемішування 220 об/хв	[13]

Біологічний агент	Склад поживного середовища, г/л	Кількість продукту, г/л	Тривалість процесу, год	Особливості технологічного процесу	Використана література
<i>Escherichia coli</i> GPT1002	Глюкоза – 20 (NH ₄) ₂ SO ₄ (сульфат амонію) – 2 KH ₂ PO ₄ (монофосфат калію) – 3 K ₂ HPO ₄ (дифосфат калію) – 7	10,15	48	35-37°C рН 6,8-7,4 інтенсивність перемішування 220 об/хв	[18]

Порівняємо вартість поживних середовищ, які були використані для біосинтезу триптофану з продуцентів, вказаних у таблиці 2.1.1. Згідно з табл. 2.1.1, 1 л поживного середовища для продуцента *Pediococcus acidilactici* TP-6 є найдорожчим, коли як для *Escherichia coli* GPT1002 ціна середовища є найнижчою.

Таблиця 2.1.2

Вартість поживних середовищ для культивування продуцентів триптофану

Продуцент	Компонент поживного середовища, г/л	Ціна компонента, грн/кг	Вартість компонента у грн на 1 л середовища	Джерело (1,2,3...10)
<i>Corynebacterium glutamicum</i> ATCC 2185	Глюкоза – 20	110	2,2	1
	(NH ₄) ₂ SO ₄ – 5,0	250	1,25	2

	KH_2PO_4 – 2,0	200	0,4	3
	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5	38	0,019	4
	Вартість одного л середовища 3,8 грн			
<i>Pediococcus acidilactici</i> TP-6	М'ясний екстракт – 5,0	300	1,5	5
	Пептон – 10,0	1120	11,2	7
	Натрію хлорид (NaCl) – 5,0	60	0,3	6
	Фосфат калію (KH_2PO_4) – 0,5	200	0,4	3
	Вартість одного л середовища 13,4 грн			
<i>Escherichia coli</i> TRTH0709	Глюкоза – 20	110	2,2	1
	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (сульфат амонію) – 4	250	1	2
	KH_2PO_4 (монофосфат калію) – 2	38	0,07	3
	Дріжджовий екстракт – 1	703	0,7	8
	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (сульфат магнію) – 0.2	38	0,007	4
	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,1	65	0,006	9
	Цитрат натрію – 2	70	0,03	10
	Вартість одного л середовища 4,01 грн			

<i>Escherichia coli</i> GPT1002	Глюкоза – 20	110	2,2	1
	(NH ₄) ₂ SO ₄ (сульфат амонію) – 2	250	0,5	2
	KH ₂ PO ₄ (монофосфат калію) – 3	38	0,1	3
	K ₂ HPO ₄ (дифосфат калію) – 7	99,6	0,7	4
Вартість одного л середовища 3,5 грн				

1. https://prom.ua/ua/Glyukoza-pischevaya.html?srsltid=AfmBOoqbri9Va3BooG6S0C3DymwC-Y8jJ8j3tbMNkH_OeNAxCkh7MrxR

2. https://prom.ua/ua/p1049090469-sulfat-ammoniya-ammonij.html?srsltid=AfmBOopf9sZ_ALLqYwZbWATe3jkGyhOAq5JEX9QoHSFqit6t-bakNDDP

3. <https://silur.prom.ua/ua/p21098388-kalij-monofosfat.html>

4. https://prom.ua/ua/p2089777946-magnij-sulfat-vodnyj.html?srsltid=AfmBOoqy5oj4oCFbs5gng5mq_Wmrr-Juz_V7Sj949j97ltpEX89KvDI

5. <https://analitica.com.ua/ua/p102765452-myasnoj-ekstraktsuhojrm003.html>

6. https://prom.ua/ua/p5216502-natrij-hloristyj.html?srsltid=AfmBOorkgCxbCyX8ty2Np7sEKP_l3yNGNrNYg70bYsfy9NZy4cIjHfrB

7. <https://prom.ua/ua/p2078708598-pepton-fermentativnyj.html>

8. <https://vianoksgel.ua/ua/p2429300269-drozhzhevoj-ekstrakt.html>

9. <https://himreagent.com.ua/ua/p1090561770-zhelezo-sernokisloe-vodnoe.html>

10. <https://prom.ua/ua/p1256334168-tsitrat-natriya-lkg.html>

Наступним етапом порівняльної характеристики продуцентів є порівняння умовної вартості 1 г триптофану при культивуванні його продуцентами у табл. 2.1.3.

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

Таблиця 2.1.3

Умовна вартість 1 г триптофану при культивуванні обраних штамів

Біологічний агент	Вартість 1 л середовища, грн	Концентрація триптофану, г/л	Умовна вартість 1 г триптофану, грн	Тривалість культивування, год	Концентрація триптофану, синтезованого за годину, г/л
<i>Corynebacterium glutamicum</i> ATCC 2185	3,8	11,5	0,3	48	0,2
<i>Pediococcus acidilactici</i> TP-6	13,4	22,94	0,58	48	0,48
<i>Escherichia coli</i> TRTH0709	4,01	35,9	0,112	40	0,89
<i>Escherichia coli</i> GPT1002	3,5	10,15	0,34	48	0,2

Згідно з даними з табл. 2.1.1, 2.1.2 та 2.1.3, можна підсумувати, що для отримання триптофану мікробним синтезом найефективніше використовувати продуцент *E. coli* TRTH0709. Даний штам синтезує 35,9 г/л триптофану на простому поживному середовищі, вартість якого становить 4,01 грн/л, упродовж 40 год. Також слід зазначити, що його умовна вартість 1 г становить 0,08 грн, а концентрація синтезованого продукту за одну годину 0,89 г на л.

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

Продуктивність біосинтезу триптофану залежить не тільки від обраного штаму, але і від модифікації продуцентів шляхом генної експресії, УФ випромінення тощо. Також склад поживного середовища є фундаментальним чинником, що впливає на ріст та розвиток мікроорганізмів та на кількість синтезованого продукту.

З чотирьох обраних продуцентів для порівняння штам *Escherichia coli* TRTH0709 був модифікованим, що можна помітити по ефективності та швидкості його синтезу, яка відрізняється від інших продуцентів. Згідно з новою інформацією про генетичну модифікацію кишкової палички, це зумовлено тим, що природні системи гальмування процесу синтезу триптофану були інактивованими, шляхом видалення генів, які кодують репресор триптофанового оперона та деградацію триптофану під час мікробного синтезу. Інактивація потрібних ферментів є чудовою стратегією при видаленні конкурентних шляхів, які ведуть до синтезу речовин, що не є цільовими продуктами біосинтезу, таким чином збільшуючи продукцію триптофану у клітинах-продуцентах [13].

Також було оптимізовано потік вуглецю, що дало змогу підвищити внутрішньоклітинний рівень фосфоенолпірувату, що бере участь у транспорті глюкози та є ключовим при виробництві триптофану, оскільки безпосередньо використовується у пентозофосфатному шляху (PEP) [13].

2.2 Обґрунтування способу проведення біосинтезу

Промисловий мікробний біосинтез l-триптофану є складним комплексним процесом, який потребує використання різних типів апаратури, наприклад, ферментатори, центрифуги, фільтри, датчики температури та pH тощо. В цьому розділі обґрунтований вибір потрібної апаратури та комплектуючих, а також вибір засобів для дезінфекції і способи її проведення при технологічному процесі біосинтезу цільової субстанції.

2.2.1 Обґрунтування вибору ферментатора

Вибір ферментатора є найважливішим при підготовці до виробничого біосинтезу l-триптофану, через те, що саме цей апарат є ключовим при

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

мікробному біосинтезі. Ферментатор є резервуаром, в якому підтримується гомеостаз середовища культивування мікроорганізмів та підтримуються усі оптимальні умови для найбільш ефективного процесу виготовлення субстанції. Для вибору ферментатора варто врахувати усі фактори біохімічної реакції у мікроорганізмах при виробництві триптофану.

Одним із факторів може бути метод культивування. Існують два методи культивування мікроорганізмів – поверхневий та глибинний [22]. При виробництві амінокислот, в тому числі триптофану, важливо отримати продукти життєдіяльності мікроорганізмів, таким чином глибинний метод буде суттєвим при виготовленні субстанції l-триптофану (рис. 2.2.1).

Другим фактором є властивості самого штаму. Для підтримки своєї життєдіяльності *Escherichia coli* потребує певних умов, таких як присутність повітря, температура 37 °C, рН близько 7 [19].

Останнім та не менш важливим фактором є поживне середовище для *Escherichia coli*, яке мусить підтримувати гомеостаз клітинної популяції, маючи усі необхідні компоненти, такі як глюкоза, як джерело вуглеводів, сульфат амонію, як джерело азоту та різноманітні солі.

Враховуючи усі ці фактори найкращим вибором для культивування триптофану з бактерій *Escherichia coli* є резервуарні біореактори безперервної дії з автоматичним перемішуванням (CSTR). Ферментатори безперервної дії мають перевагу над ферментаторами з технологією періодичного підживлення, оскільки забезпечують продуктивність виробництва цільового продукту шляхом підтримки сталого середовища всередині ферментатора. До того ж біореактори безперервної дії зазвичай застосовують каскадну технологію, тобто ріст продуцентів відбувається у кількох резервуарах, що дозволяє вдало оптимізувати умови виробництва, наприклад, при різних фазах росту [20].

Перемішування у резервуарі біореактора підвищує продуктивність виготовлення цільового продукту, особливо у промислових масштабах. Це пояснюється тим, що у ферментаторах подача повітря відбувається знизу, а

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

субстрат, тобто поживне середовище, подається зверху, що може призвести до обмеження кисню у верхніх шарах культури, та навпаки, перенасичення киснем на дні ферментатора [19]. Таким чином перемішування забезпечує оптимальну концентрацію усіх потрібних компонентів для ефективного виробництва триптофану.

Як вже було зазначено вище, для продуцента *E. coli* необхідні оптимальні параметри середовища (температура, рН), тому в такому закритому середовищі обов'язково має бути система моніторингу та регулювання параметрів ферментації, щоб вчасно оцінити стан мікроорганізмів, а якщо необхідно вжити заходів для їхнього покращення.

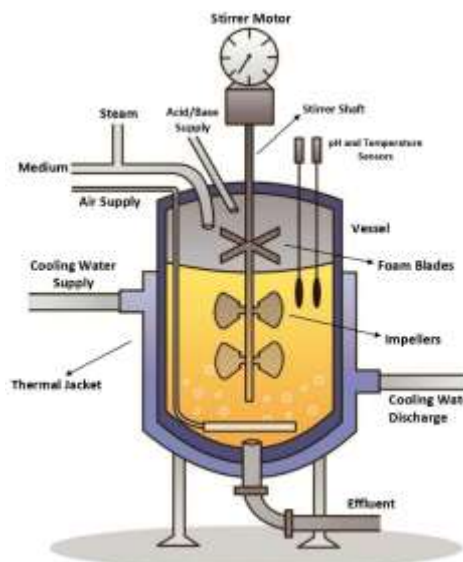


Рисунок 2.2.1 – Схема системи ферментатора CSTR

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

2.2.2 Обґрунтування вибору стадії підготовки аераційного повітря

При роботі з мікроорганізмами дуже важливо підтримувати стерильність робочого місця, що стосується також повітря. Для підготовки аераційного повітря в приміщеннях на виробництві встановлюють вентиляцію від пилу, пари, токсичних речовин тощо. Установки, що уловлюють газ та пил зазвичай працюють автоматично. Усі апарати мають бути добре герметизовані, щоб уникнути будь-якого потрапляння забруднюючих частинок, які можуть погіршити якість цільового продукту [22].

При культивуванні мікроорганізмів використовуються апарати для очищення та стерилізації повітря, а саме головні та індивідуальні фільтри. Глибинні фільтри мають перфоровані решітки з волокнистого матеріалу, який допомагає очищувати та затримувати до 95% пилу та іншого забруднення. Індивідуальні фільтри складаються з ультратонких базальтових волокон, завдяки яким повітря очищується на 99,99% [22].

Що стосується біореактора, то він має бути оснащений барботером, який забезпечує подачу стерильного повітря у нижню частину резервуара з біоматеріалом [20].

2.2.3 Обґрунтування вибору дезінфекторів та методу дезінфекції

Забезпечення санітарно-гігієнічних умов на охоплює підтримку чистоти повітря, дезінфекція поверхонь приміщення та зменшення мікробного забруднення. Це необхідно не лише для забезпечення ефективності отримання сировини, але і для безпеки персоналу, оскільки умовно патогенна мікрофлора може викликати різноманітні інфекції [23].

В умовах біотехнологічного виробництва найбільшим джерелом забруднення є повітря. Саме тому необхідно забезпечити приміщення вентиляцією, що зменшує концентрацію шкідливих речовин у повітрі до мінімуму, а також забезпечує циркуляцію повітря [22].

Також для знезараження приміщень використовують бактерицидні лампи, які використовують ультрафіолетове випромінювання у діапазоні 205-

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

315 нм. Їхнє розташування у кімнатах має бути не менше ніж 20-25 см від стелі та не менше ніж 2,1-2,15 м від підлоги. Час роботи таких ламп мусить бути не менше 30 хвилин за 1-2 години до початку роботи. Для безпечнішого використання бактерицидних ламп, приміщення мають мати інтенсивне провітрювання, які забезпечують повітрообмін менше ніж за 15 хв [23].

До дезінфекційних засобів, які використовують для ліквідації патогенних мікроорганізмів на поверхнях виробничого приміщення, відносяться хімічні речовини на основі хлору, альдегідів, четвертинних амонієвих солей, спиртів, пероксиду водню та ін.

При виборі мийних засобів варто враховувати їхній склад, оскільки різні речовини мають свої переваги та недоліки. Хлоровмісні мийні засоби мають високу антимікробну дію – знищують бактерії, віруси, спори, гриби тощо, мають низьку вартість, але мають високу токсичність та різкий запах – може подразнювати слизові оболонки людини, нестабільність, хлоровмісні сполуки також можуть бути несумісними з іншими мийними засобами, наприклад, зі засобами на основі аміаку, та викликати викид токсичних газів.

Четвертинні амонієві сполуки мають низьку токсичність, відсутність запаху та антимікробну дію. До недоліків можна віднести те, що ці дезінфекційні засоби викликають адаптацію мікрофлори, до того ж мають доволі високу ціну.

Дезінфектанти на основі спиртів є хорошою альтернативою, оскільки мало токсичні та ефективно очищають поверхні. Проте виготовлення таких розчинів на основі спиртів може бути дорогим.

Сполуки на основі перекису водню мають широкий спектр дії, низьку токсичність та невелику вартість у порівнянні з іншими дезінфектантами. З недоліків мийних засобів на основі перекису водню є корозійність та нестабільність [23].

Найкращим вибором для дезінфекції приміщень є дезінфектанти на основі перекису водню, оскільки вони мають широкий спектр антимікробної дії, є малотоксичними та не залишають шкідливих залишків, що робить їх

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

безпечними для виробничого процесу. До того ж їхню корозійність можна знизити, використовуючи обладнання з антикорозійним покриттям або застосовувати стабілізований пероксид водню з додаванням ортофосфатної кислоти, приблизно 1 мг на 1 л 70% розчину пероксиду водню може знизити корозію металічного обладнання [24].

Що стосується покращення стабільності, то можна поєднувати пероксид з четвертинними амонієвими сполуками, що покращить дезінфекційний ефект та знизить адаптацію мікроорганізмів, що підвищить антимікробну дію дезінфектанту.

До підтримки чистоти біотехнологічних процесів також входить санітарна обробка внутрішніх частин ферментатора після роботи. Проте варто зазначити, що не можна використовувати будь-які дезінфектанти при очищенні внутрішньої частини обладнання, яке безпосередньо контактує з оброблювальними об'єктами, оскільки це може вплинути на біохімічні процеси – поверхні ферментатора можуть залишатися частинки мийних засобів, які можуть взаємодіяти з мікрофлорою. Таким чином ферментатори очищуються лише гарячою парою [22].

Для забезпечення санітарно-гігієнічних норм на підприємстві варто обов'язково дотримуватися правил особистої гігієни для персоналу, який безпосередньо залучений у процесі виробництва. Персонал має бути забезпечений спецодягом. Виробничі приміщення мають мати обладнанням для безпечного виготовлення та зберігання оброблювальних об'єктів, а також засобами для підтримання чистоти й дезінфекції, зокрема рукомийниками, дозаторами антисептиків, санітарними вузлами та зонами для переодягання.

Відповідальне дотримання вимог гігієни та санітарії запобігає забрудненню на підприємстві, забезпечує високу якість продукції та безпечні умови праці.

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

2.3 Розрахунок кількості необхідних стадій підготовки посівного матеріалу з наведенням складу поживного середовища

2.3.1 Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу

Для наступних розрахунків враховуватимемо значення, розраховані у п. 1.4. Було вираховано, що кількість культуральної рідини за один цикл становить $V_{крц} = 299$ л.

Припустимо, що витрати культуральної рідини під час біосинтезу (E_f) становлять 10%, звідси вирахуємо потрібну кількість поживного середовища та посівного матеріалу перед початком біосинтезу:

$$V_{роб.1} = V_{крц} / 1 - E_f = 299 / 1 - 0,1 = 332,3 \text{ л}$$

Оскільки під час ферментації ферментер не має бути повністю заповненим (з урахуванням коефіцієнту заповнення $K_{зап1} = 0,6$), то потрібний об'єм ферментера складатиме:

$$V_{ф.1} = 332,3 / 0,6 = 553,8 \text{ л або } 1000 \text{ л}$$

Для розрахунку об'єму посівного матеріалу, враховуємо те, що його кількість (X_f) має бути 10% від усього об'єму поживного середовища, таким чином: $V_{п.м.1} = V_{роб.1} / 1 + X_f = 332,3 / 1 + 0,1 = 302$ л

Отже, кількість посівного матеріалу становить:

$$V_{п.м.1} = V_{роб.1} - V_{п.ж.с.1} = 332,3 - 302 = 30,3 \text{ л}$$

2.3.2 Розрахунок кількості посівного матеріалу для вирощування культури в інокуляторі на 200 л

Розрахуємо кількість посівного матеріалу та поживного середовища в інокуляторі, враховуючи витрати ($E_{ін}$) 10%:

$$V_{роб.2} = V_{п.м.1} / 1 - E_{ін} = 30,3 / 1 - 0,1 = 33,7 \text{ л}$$

Врахуємо об'єм інокулята з урахуванням коефіцієнта заповнення ($V_{ін} = 33,7 / 0,6 = 56,1$ л) та об'єма стандартного ферментера на $56,1 \approx 100$ л):

$$K_{зап2} = V_{роб.2} / V_{ін} = 33,7 / 100 = 0,337$$

Оскільки коефіцієнт заповнення перебуває у вибраних межах, то можна розрахувати скільки літрів поживного середовища в інокуляторі:

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

$$V_{\text{пож.с.2}} = V_{\text{роб.2}} / 1 + X_{\text{ін}} = 33,7 / 1 + 0,1 = 30,6 \text{ л}$$

З цього випливає, що кількість посівного матеріалу становитиме:

$$V_{\text{п.м.2}} = V_{\text{роб.2}} - V_{\text{пож.с.2}} = 33,7 - 30,6 = 3,1 \text{ л}$$

2.3.3 Розрахунок кількості посівного матеріалу для вирощування культури в колбах на качалці

Оскільки у *пункті 2.3.2* кількість посівного матеріалу в інокуляті звелось до найменш доступного об'єму для вирощування у качалочних колбах, розрахуємо скільки колб об'ємом 750 мл та коефіцієнтом заповнення $K_{\text{зк}} = 0,2$ потрібно для отримання посівного матеріалу у кількості 3,1 л або 3100 мл:

$$N_{\text{колб}} = V_{\text{п.м.3}} / V_{\text{колб}} * K_{\text{зк}} = 3100 / 750 * 0,2 = 0,8 \approx 1 \text{ шт}$$

Підводячи підсумки, можна стверджувати, що процес отримання посівного матеріалу для проведення мікробного біосинтезу l-триптофану у біореакторі об'ємом 10 л та з урахуванням коефіцієнту заповнення 0,6 має проходити у два етапи.

2.4 Обґрунтування способу приготування і стерилізації поживного середовища для одержання інокуляту і виробничого біосинтезу

Повертаючись у п. 2.1., було визначено, що найкращим продуцентом для отримання l-триптофану є *Escherichia coli* TRTH0709. Вирощування посівного матеріалу та подальший синтез цільового продукту буде відбуватися у поживному середовищі з таким складом:

Глюкоза – 20 г/л

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (сульфат амонію) – 4 г/л

KH_2PO_4 (монофосфат калію) – 2 г/л

Дріжджовий екстракт – 1 г/л

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (сульфат магнію) – 0.2 г/л

Цитрат натрію – 2 г/л

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,1 г/л

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

Тепер розрахуємо кількість компонентів для різних об'ємів у табл.2.4.1:

Таблиця 2.4.1

Кількість компонентів середовища для різних об'ємів води

Компоненти	1 л	10 л	100 л	229 л
Глюкоза	20 г	200 г	2 кг	4580 г
(NH ₄) ₂ SO ₄	4 г	40 г	400 г	916 г
KH ₂ PO ₄	2 г	20 г	200 г	458 г
Дріжджовий екстракт	1 г	10 г	100 г	229 г
MgSO ₄ ×7H ₂ O	0,2 г	2 г	20 г	45,8 г
Цитрат натрію	2 г	20 г	200 г	458 г
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,1 г	1 г	10 г	22,9 г

Для приготування поживного середовища важливо поділити його склад на кілька композицій, в залежності від режиму стерилізації компонентів. У табл. 2.4.2 наведені композиції для вирощування інокуляту в колбах на качалках.

Таблиця 2.4.2

Умови режиму стерилізації компонентів поживного середовища

№	Компоненти	Умови режиму стерилізації
1	Глюкоза	112 °С, 30 хв
2	(NH ₄) ₂ SO ₄ , KH ₂ PO ₄	131 °С, 40 хв
3	FeSO ₄ ·7H ₂ O	131 °С, 40 хв
4	MgSO ₄ ×7H ₂ O	131 °С, 40 хв
5	Дріжджовий екстракт	121 °С, 15 хв

Подальша стерилізація компонентів відбуватиметься у автоклаві наступним чином: стерелізація солей з композицій 2,3 та 4 стерилізуються окремо для того, щоб запобігти утворення нерозчинних сполук. При цьому сульфат магнію та сульфат заліза готуються окремо, оскільки вони

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

виступають як запасні розчини через малу концентрацію у поживному середовищі у порівнянні з іншими компонентами (табл. 2.4.1).

У попередньому п. 2.3 було вираховано, що для біосинтезу l-триптофану зі заданим об'ємом культуральної рідини 299 л, ферментація проходить у 3 етапи. Перший етап – вирощування інокуляту в інокуляторі об'ємом 10 л. Під час цього етапу композиція поживного середовища змінюється (табл 2.4.3).

Таблиця 2.4.3

Умови режиму стерилізації композицій поживного середовища

№	Компоненти	Умови режиму стерилізації
1	Глюкоза	112 °С, 30 хв
2	(NH ₄) ₂ SO ₄ , KH ₂ PO ₄ , цитрат натрію MgSO ₄ ·7H ₂ O	131 °С, 40 хв
3	Дріжджовий екстракт	121 °С, 15 хв
4	FeSO ₄ ·7H ₂ O	121 °С, 15 хв

Така перестановка композиції можлива за умов, що композиція 2 матиме рН розчину в діапазоні 4 – 4,5, що виконується шляхом додавання 6%-ого розчину HCl. Після чого важливо підтримати оптимальне середовище рН, яке підтримується на рівні 7 шляхом додавання 6%-ого розчину NaOH.

Отже, для першого етапу для композиції глюкози та композиції дріжджового екстракту використовується збірники об'ємом 2 л, для композиції під номером 2 (табл. 2.4.3) використовується збірник об'ємом 6,5 л.

Другим етапом є вирощування інокуляту в інокуляторі об'ємом 100 л. Цей етап передбачає перелаштування композиції за табл. 2.4.4.

Таблиця 2.4.4

Умови режиму стерилізації композицій поживного середовища

№	Компоненти	Умови режиму стерилізації
1	Глюкоза	112 °С, 30 хв
2	(NH ₄) ₂ SO ₄ , KH ₂ PO ₄ , цитрат натрію MgSO ₄ ·7H ₂ O	131 °С, 40 хв
3	Дріжджовий екстракт, FeSO ₄ ·7H ₂ O	121 °С, 15 хв

В цьому випадку дріжджовий екстракт та сульфат заліза стерилізуються разом, оскільки вони є термолабільними компонентами розчину. Для розчину 6%-ого HCl використовується колба об'ємом 0,5 л. Нейтралізуючий фактор розчину 6%-ий NaOH також готується та стерилізується у колбі, що має об'єм 0,5 л.

Отже, другий етап містить такі збірники: для композиції 1 використовується 20 л, для другої композиції 65 л, тоді для композиції 3 потрібен об'єм в 15 л.

Останнім етапом є вирощування культури у біореакторі об'ємом 0,5 м³ (пункт 1.4), стерилізація поживного середовища відбувається в апараті Сателіт. Для початку роботи необхідно простерилізувати ферментатор та всіх його комплектуючих гострою парою. Потім в нагрівач місткістю 0,5 м³ подають пару та поживне середовище, яке швидко нагрівається до 120°С, а потім через витримувач подається у пластинчастий теплообмінник-рекуператор, де його температура підтримується. З теплообмінника-рекуператора поживне середовище надходить у нагрівач-стерилізатор, де воно стерилізується при температурі 120 °С протягом півтори-дві години. Пізніше охолоджене середовище надходить у ферментер об'ємом 0,5 м³, де відбувається культивування.

						Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

Висновки до розділу 2

1. В ході аналізу обраних штамів, таких як *Corynebacterium glutamicum* ATCC 2185, *Pediococcus acidilactici* TP-6, *Escherichia coli* TRTH0709 та *Escherichia coli* GPT1002 для синтезу триптофану було визначено, що штам *Escherichia coli* TRTH0709 є найефективнішим при виробництві цільового продукту у промислових масштабах. Це пов'язано з тим, що даний штам кишкової палички був генетично модифікованим, що і дало такі високі результати.

Також було проаналізовано основні етапи реалізації біосинтезу до якого входить вибір обладнання та обґрунтування умов стерилізації компонентів поживного середовища. Для біосинтезу було обрано ферментатор безперервної дії з автоматичним перемішуванням (CSTR), через можливість контролювати процес автоматично.

2. Для отримання триптофану у необхідних кількостях, а саме 312,4 л на добу, варто провести 147 циклів на добу, з культуральною рідиною об'ємом 229 л, що проводиться у ферментаторі, ємністю у 0,5 м³. Для цього починають з вирощування посівного матеріалу у колбі об'ємом 750 мл, куди додають 300 мл стерилізованого поживного середовища, компоненти якого стерилізують на кожному етапі масштабування, спочатку окремо кожен елемент, поступово змішуючи на наступних етапах. Після колби, інокулят вирощують у посівному апараті об'ємом в 5 л, додаючи стерилізовані композиції, підготовлені у окремих колбах. Далі переходять на посівний апарат об'ємом 50 л, повторно додаючи композиції з інокулятора, що були стерилізованими. Останнім етапом, коли мікроорганізми наростили біомасу, можна додавати решту поживного середовища у ферментатор та починати промисловий біосинтез триптофану.

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

РОЗДІЛ 3

ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

3.1 Таксономічний статус

Домен: *Bacteria*;

Царство: *Pseudomonadati*;

Тип: *Pseudomonadota*;

Клас: *Gamma-Proteobacteria*;

Порядок: *Enterobacterales*;

Родина: *Enterobacteriaceae*;

Рід: *Escherichia*;

Вид: *Escherichia coli*;

Штам: *E. coli* TRTH0709 [13].

Штам *E. coli* TRTH0709 був попередньо модифікований через надекспресування генів у ДАНР-синтазі, а саме шляхом коекспресії таких генів, як *TktA* та *PpsA*. За рахунок додаткових маніпуляцій з геном *serA*, що відповідає за біосинтез серину, у якому шляхом хромосомної аберації, були вилучені гени *trpR* та *tna* [13].

3.2 Морфолого-культуральні властивості

Зовнішній вигляд *E. coli* представлений у формі продовгуватої заокругленої палиці, довжина якої коливається від 1,0 до 2 мкм, ширина – 0,5 мкм, має джгутики. Кишкова паличка відноситься до грамнегативних бактерій [26].

					КР.ПЗ.162.03		
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 3. ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА		
Розробив	Головач І.С.						
Перевірів	Охмат О.А.						
Н.Контр.							
Затвердив					КНУТД, ББТ-21		
					Літ.	Аркуш	Аркушів
					Д	36	2

Бактерії *E. coli* культивуються зазвичай у поживних середовищах, які містять вуглець, до прикладу м'ясо-пептонний бульйон/агар або поживне середовище Лурія-Бертані [27].

На різних середовищах *E. coli* росте інакше, наприклад, на середовищі з агару колонії стають напівпрозорими та набувають сірого кольору, опуклі, висотою в 1-3 мм. На м'ясо-пептонному бульйоні бактерії набувають зеленого кольору з характерним блиском, мають гладку, опуклу форму, непрозорі. При вирощуванні кишкової палички на агарному середовищі Лурія-Бертані, колоніям притаманне жовтувате забарвлення з опуклою круглою та гладкою формою висотою 2-3 мм [27].

3.3 Фізіолого-біохімічні властивості

E. coli є анаеробним мікроорганізмом, тип живлення якого є хемоорганогетеротрофне. Здатна рости за температури 20-40 °С, але найоптимальнішою є температура в 37-38 °С, в присутності кисню та рН 7,0. Найкращим джерелом вуглецю та енергії для бактерії є глюкоза [27].

Висновки до розділу 3

Властивості штам *E. coli* TRTH0709 роблять його перспективним біологічним агентом для реалізації мікробного біосинтезу триптофану. Використання зазначеного високопродуктивного штаму дозволить промисловому підприємству збільшити обсяги виробництва цільового продукту при ресурсоощадності самої технології біосинтезу.

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

РОЗДІЛ 4

ОБҐРУНТУВАННЯ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

Технологічна схема промислового виробництва l-триптофану за допомогою продуцента *E. coli* TRTH0709 передбачає наступні стадії: допоміжні роботи (ДР), технологічний процес (ТП), знешкодження відходів (ЗВ).

Технологічна схема синтезу l-триптофану наведено у графічному плані на аркуші з форматом А1 (додається).

ДР 1. Забезпечення санітарно-гігієнічної підготовки виробництва

ДР 1.1 Підготовка персоналу

Усі співробітники, які безпосередньо працюють на виробництві речовини мають дотримуватися правил гігієни, техніки безпеки на виробництві, співробітники мають проходити навчання по принципам GMP. Персонал має бути забезпечений робочим одягом (ДР.1.1.3), таким як медичні халати та одноразовим одягом, таким як гумові рукавички. Перед безпосереднім входом на виробництво персонал має вимити руки з милом, висушити та використати дезінфікуючий антисептичний засіб (ДР.1.2.3).

ДР 1.1.1. Навчання персоналу

Для кращої ефективності роботи персоналу необхідно проводити навчання для підвищення кваліфікації як мінімум раз у рік, щоб забезпечити співробітників актуальними знаннями та навичками.

ДР 1.1.2. Медичний огляд

У зв'язку з тим, що виробництво l-триптофану не передбачає використання токсичних або небезпечних для людини речовин, медичний огляд персоналу має проводитися щорічно.

					КР.ПЗ.162.03				
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата					
Розробив		Головач І.С.			РОЗДІЛ 4. ОБҐРУНТУВАННЯ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ		Літ.	Аркуш	Аркушів
Перевірів		Охмат О.А.					Д	38	14
							КНУТД, ББТ-21		
Н.Контр.									
Затвердив									

ДР 1.1.3. Підготовка одягу

При роботі на виробництві необхідно забезпечити персонал чистими 100%-ими бавовняними халатами. Після закінчення робочого дня необхідно провести процедури з очищення використаних халатів. Спершу необхідно переглянути одяг, щоб переконатися, що у кишенях чи на халатах немає залишених речей, які можуть пошкодити пральну машину. Наступним етапом є завантаження одягу у пральну машину. Наступним кроком є завантаження рідкого мийного засобу для одягу в пральну машину, налаштування температури 90 °С.

Одяг має пратися протягом двох з половиною годин. Коли цикл прання у пральній машині буде завершеним, необхідно висушити та/або простерилізувати та випрасувати праскою при температурі 150 °С. Налаштування сушильної машини при сушінні халатів мають бути при температурі 60 °С протягом 30 хвилин. Останнім етапом є складання халатів у приміщення з чистим одягом для персоналу.

ДР 1.2. Підготовка дезінфікуючих та мийних засобів

ДР 1.2.1. Підготовка мийних засобів

Каустична сода, також відома як гідроксид натрію. Для приготування мийного засобу на основі каустичної соди потрібно взяти ємність об'ємом 10 л. Для того, щоб мийний засіб на основі каустичної соди був ефективний, береться 2,0 М NaOH розведений у технічній воді. Таким чином у ємності на 10 л змішуємо 8 літрів технічної води з 640 г NaOH.

Розчин каустичної соди може зберігатися у резервуарі зі скла або поліетилену високої щільності (HDPE) у прохолодному сухому приміщенні до 3 років. Контейнер з розчином має бути герметичним, оскільки повітря може вплинути на його якість.

При роботі з розчином необхідно працювати в захисному одязі – рукавичках, окулярах, через високу корозійність каустичної соди.

Каустичну соду використовують на стадії ДР.1.3.1 підготовки обладнання (миття) та для підготовки приміщень (до ДР.1.4, ДР.1.4.1).

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

Підготовка хлорного вапна відбувається наступним чином: у ємність об'ємом 15-20 л наливають 3-4 л питної води та поступово додають 1 кг хлорного вапна, помішуючи. У кінці доливають до ємності ще 5 л води та рівномірно перемішують. Ємність закривають на 1 добу та зберігають у темному прохолодному. Через добу розчин фільтрують через марлю. Потім фільтрат, який тепер є 10% розчином хлорного вапна, закривають у резервуарі та зберігають на складі до 7 діб (до ДР.1.3.3).

ДР 1.2.2. Підготовка дезінфікуючих засобів для приміщень та обладнання

Для підтримки санітарних умов виробничого приміщення використовуються хлоровмісні розчини з концентрацією від 0,3 % (до ДР.1.4, ДР.1.4.2) до 3 % (до ДР.1.4) або розчини перекису водню 3% (до ДР.1.4.1) та 6% (до ДР.1.4.2).

Хлорамін Б. Для приготування розчину хлораміну Б з концентрацією 3 % необхідно взяти 30 г хлораміну та розчинити у 1000 мл питної води. Для менших концентрацій хлораміну Б, як от 0,3%, необхідно взяти 3 г порошку хлораміну Б на літр питної води. Розчин зберігається у закритих ємностях при температурі 18-20 °С впродовж 3 місяців. Розчин використовується як хлорвмісний мийний засіб (до ДР.1.4, ДР.1.4.2).

Перекис водню. Варто пам'ятати, що при роботі з 50% перекисом водню треба працювати у рукавичках. Для приготування мийного розчину 3% перекису водню необхідно взяти 940 мл дистильованої води та додати 60 мл 50% пероксиду водню (до ДР.1.4.1). Для приготування мийного розчину 6% перекису водню необхідно взяти 880 мл дистильованої води та додати 120 мл 50% пероксиду водню (до ДР.1.4.2). Розчин зберігається у закритих ємностях при температурі 18-20 °С впродовж 3 місяців.

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

ДР 1.2.3. Підготовка дезінфікуючих засобів для персоналу

Для того, щоб підтримувати гігієну персоналу необхідно забезпечити його не лише рукомийником з милом, але і антисептиками. Для гігієнічної обробки рук використовують спиртовмісні розчини з щонайменше 60-70% етилового спирту. Для даного виробництва можна використати 0,5% спиртовий розчин хлоргексидину в 70% етиловому спирті.

Етиловий спирт. Беремо 1000 мл 96% етиловий спирт зі складу і змішуємо з 370 мл дистильованої води. Розчин зберігаємо за температури 18-25 °С упродовж 6 місяців (до ДР 1.1).

Хлоргексидин. Беремо 1000 мл дистильованої води та додаємо 25,6 мл 20% розчину хлоргексидину для одержання антисептичного розчину для персоналу. Розчин зберігаємо за температури 18-25 °С упродовж 6 місяців (до ДР 1.1).

Дезінфікуючі розчини для персоналу будуть змінюватися кожен квартал (до ДР 1.1).

ДР 1.3. Підготовка ферментатора

Після кожного циклу роботи ферментатора необхідно провести його очищення мийними засобами та стерилізацію гострою парою, оскільки хімічне очищення може завдати шкоди наступним процесам, що відбуватимуться у біореакторі. Ферментатор можна продезінфікувати лише ззовні, використовуючи дезінфікуючі розчини (від ДР 1.2.2).

ДР 1.3.1. Огляд, миття та ополіскування апарату

Перед початком ферментації необхідно перевірити стан ферментатора, проконтролювати внутрішні поверхні апарату на наявність бруду.

Ферментатор миється розчином каустичної соди (від ДР 1.2.1) за температури 80-90 °С упродовж 1-1,5 год, після ретельно промивають водою для усунення всіх можливих забруднень у вигляді осаду.

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

ДР 1.3.2. Перевірка на герметичність

Перевірка ферментатора на герметичність відбувається стисненням повітрям під тиском 0,15-0,2 МПа та спостерігають за показниками барометра упродовж години. Якщо у ферментаторі є витіки, що супроводжуються падінням тиску на 0,005 МПа та більше, їх усувають попередньо обмилюючи з'ємні частини. В кінці проводять перевірку повторно до стану повної герметичності апарату.

ДР 1.3.3. Стерилізація апарату

Стерилізація проводиться насиченою сухою водяною парою за температури 120 °С. Спочатку подається у ферментер пара у сорочку для прогріву апарату. Після стерилізація ферментатора проходить за температури 135°С та при тиску 0,3 МПа протягом півтори години. Стерилізація ферментатора обов'язкова для усіх частин машини, особливо для важкодоступних місць, таких як закуткових місць апарату, фланцях, штуцерах, датчиках, фасонних деталей тощо. Після чого ферментатор охолоджується до температури 30-40°С три з половиною години. Така стерилізація не шкодить подальшому біосинтезу в апараті, оскільки не утворює шкідливих для мікрофлори речовин. Даний спосіб стерилізації проводиться після кожної ферментації.

Окрім стерилізації водяною парою використовують також хімічний спосіб стерилізації разом з парою, який проводиться раз на місяць. Після звичайного огляду та ополіскування апарату (від ДР.1.3.1), апарат заповнюється водою з 10% хлорним вапном (від ДР.1.2.1). Суміш перемішують протягом 30 хв та дають настоятися півтори години. Для закінчення процесу та забезпечення асептичних умов у ферментер подають стерильне повітря при тиску 0,003 МПа.

ДР 1.4. Підготовка приміщень

При підготовці приміщення до роботи відбувається прибирання підлоги, стін та зовнішніх поверхонь приладів розчинами антисептиків та детергентів, а саме каустичною содою (від ДР.1.2.1) та 0,3% розчином хлораміну Б (від

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

ДР.1.2.2). Окрім цього як мінімум раз на тиждень для дезінфекції підлоги, стін та певехонь апаратури використовується 3 %-вий розчин хлораміну Б (від ДР.1.2.2).

ДР 1.4.1. Щоденне прибирання

У виконання щоденного прибирання входять такі процедури, як видалення пилу з підлоги та робочих поверхонь, вологим прибиранням, дезінфекція поверхонь розчинами 3% перекису водню (від ДР.1.2.2) каустичної соди (від ДР.1.2.1), дезінфекція контейнерів для відходів та щоденний контроль наявності антисептиків та мийних засобів (від ДР.1.2.3).

ДР 1.4.2. Генеральне прибирання

Генеральне прибирання виконується раз у місяць. До генерального прибирання входять такі процедури, як вологе прибирання усіх поверхонь приміщень з дезінфікуючими розчинами 6% перекису водню (від ДР.1.2.2), 3% хлораміном Б (від ДР.1.2.2), включаючи стіни, стелю, очищення вентиляційної системи та, якщо потрібно, заміна вентиляційних фільтрів.

ДР 2. Приготування стерильного аераційного повітря

ДР 2.1 Забір атмосферного повітря

Забір атмосферного повітря відбувається через повітрозбірник з висоти 30-35м.

ДР 2.2. Очищення повітря від пилу і механічних часток

Оскільки атмосферне повітря має дрібні тверді та рідкі частинки з чужорідними мікроорганізмами. Виключення різних часток відбувається за допомогою фільтру грубої очищення до ступеня ефективності очищення 80%, та тиску 65 – 250 Па.

ДР 2.3. Стиснення повітря

Стиснення повітря відбувається у компресорі за тиску 0,35 МПа та температури повітря 170–200 °С.

ДР 2.4. Охолодження повітря та видалення вологи

Після стиснення повітря охолоджується до температури 25–30 °С за допомогою теплообмінника. Внаслідок чого вологість повітря становить

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

60%. Після чого для стабілізації термодинамічних показників та видалення сконденсованої вологи повітря подаємо у ресивер.

ДР 2.5. Нагрівання повітря

Після ресиверу повітря нагріваємо до температури 50 °С у теплообміннику для видалення зайвої вологи.

ДР 2.6. Очищення повітря в головному фільтрі

Головний фільтр, що очищує повітря на 95%, встановлюється біля ферментаційних відділень. Рівень тиску при цьому становить 80 Па на початку, та 450 Па в кінці процесу.

ДР 2.7. Очищення повітря в індивідуальних фільтрах

Останнім кроком очищення повітря на виробництві є очищення в індивідуальних фільтрах, які мають ступінь очищення 99,99%. Тиск на початку процесу становить 140 Па, завершуючи 600 Па. Індивідуальні фільтри встановлюють безпосередньо біля посівних апаратів та ферментеру.

ДР 4. Приготування та стерилізація поживних середовищ

Компонентами середовища для біосинтезу l-триптофану є наступні речовини: глюкоза, дріжджовий екстракт, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (сульфат амонію), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (сульфат магнію), цитрат натрію, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (сульфат заліза), KH_2PO_4 (монофосфат калію), кількість яких можна побачити у табл. 4.1.

Компоненти цього середовища можна поділити на 3 композиції: композиція I – глюкоза, дріжджовий екстракт; композиція II – $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (сульфат амонію), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (сульфат магнію), цитрат натрію, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; композиція III – KH_2PO_4 (монофосфат калію).

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

Склад поживного середовища для отримання триптофану

Композиція	Компоненти ПС	Умови стерилізації: °C, МПа, хв	Об'єми апаратів/колб, л:			
			0,5	5	50	500
I	Глюкоза	121; 0,1; 20	6	54	540	5400
	Дріжджовий екстракт		0,3	2,7	27	270
II	(NH ₄) ₂ SO ₄	131; 0,15; 30	1,2	10,8	108	1080
	MgSO ₄ ·7H ₂ O		0,06	0,54	5,4	54
	Цитрат натрію		0,6	5,4	54	540
	FeSO ₄ ·7H ₂ O		0,03	0,27	2,7	27
III	KH ₂ PO ₄	131; 0,15; 30	0,6	5,4	54	540

ДР 4.1. Приготування та стерилізація середовища для вирощування інокуляту в колбах

На даному етапі готуємо поживне середовище 300 мл. Розрахунок усіх компонентів поживного середовища для вирощування посівного матеріалу у колбах наведено у *табл.4.1*.

ДР 4.1.1. Підготовка та стерилізація композиції I

Беремо 6 г глюкози та 0,3 г дріжджового екстракту, які додаються у колбу об'ємом 500 мл. Після чого додаємо 300 мл питної води, перемішуючи суміш. Колбу закорковують ватно-марлевою пробкою та стерилізують при 121 °C, при тиску 0,1 МПа протягом 20 хвилин. Після стерилізації композицію I передають до ТП.5.3

ДР 4.1.2. Підготовка та стерилізація композиції II

Беремо 1,2 г сульфату амонію, 0,06 г сульфату магнію, 0,6 г цитрату натрію та 0,03 г гептагідрату сульфату заліза, які додаються у колбу об'ємом 500 мл. Після чого додаємо 300 мл питної води, перемішуючи суміш.

Колбу закривають ватно-марлевою пробкою та стерилізують у автоклаві при 131 °С, при тиску 0,15 МПа протягом 30 хвилин. Після стерилізації композицію II передають до ТП.5.3

ДР 4.1.3. Підготовка та стерилізація композиції III

Беремо 0,6 г монофосфату калію, який додається у колбу об'ємом 500 мл. Після чого додаємо 300 мл дистильованої води, перемішуючи суміш. Колбу закупорюють ватно-марлевою пробкою та стерилізують при 131 °С, при тиску 0,15 МПа протягом 30 хвилин. Після стерилізації композицію III передають до ТП.5.3

ДР 4.2. Приготування і стерилізація середовища для вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 5 л

На даному етапі готуємо поживне середовище 2,7 л. Розрахунок усіх компонентів поживного середовища для вирощування посівного матеріалу у колбах наведено у *табл.4.1.*

ДР 4.2.1. Підготовка та стерилізація композиції I

Використовуючи електронні ваги, зважуємо та додаємо 54 г глюкози та додаємо 2,7 г дріжджового екстракту у колбу об'ємом 5 л. Після чого додаємо 1,7 л питної води, перемішуючи. Останнім етапом є закупорка колби ватно-марлевою пробкою та стерилізація розчину при 121 °С, при тиску 0,1 МПа протягом 20 хвилин. Після стерилізації композицію I передають до ТП.5.4

ДР 4.2.2. Підготовка та стерилізація композиції II

Використовуючи електронні ваги, зважуємо та додаємо 10,8 г сульфату амонію, 0,54 г сульфату магнію, 5,4 г цитрату натрію та 0,27 г гептагідрату сульфату заліза у колбу об'ємом 1 л. Після чого додаємо 500 мл питної води. є Закупорюємо колбу ватно-марлевою пробкою та стерилізуємо розчину при 131°С, при тиску 0,15 МПа протягом 30 хвилин. Після стерилізації композицію II передають до ТП.5.4

ДР 4.2.3. Підготовка та стерилізація композиції III

Використовуючи електронні ваги, зважуємо та додаємо 5,4 г монофосфату калію у колбу об'ємом 1 л. Після чого додаємо 500 мл

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

дистильованої води, перемішуючи. Останнім етапом є закупорка колби ватно-марлевою пробкою та стерилізація розчину при 130 °С, при тиску 0,15 МПа протягом 30 хвилин. Після стерилізації композицію III передають до ТП.5.4

ДР 4.3. Приготування і стерилізація середовища для вирощування інокуляту в посівному апараті об'ємом 50 л

На даному етапі готуємо поживне середовище 27 л. Розрахунок усіх компонентів поживного середовища для вирощування посівного матеріалу у посівному апараті наведено у *табл.4.1*.

ДР 4.3.1. Підготовка та стерилізація композиції I та II

За допомогою електронних вагів зважуємо та додаємо 540 г глюкози, 27 г дріжджового екстракту, 108 г сульфату амонію, 5,4 г сульфату магнію, 54 г цитрату натрію та 2,7 г гептагідрату сульфату заліза в стерильний інокулятор на 50 л. Після цього додається титрувальний розчин 6% HCl (ДР.3.1) до досягнення рН 6,8-7,4. Далі додаємо 26 л питної води та вмикаємо перемішуючий пристрій. Останнім етапом є стерилізація композиції I та II за температури 121 °С, при тиску 0,1 МПа протягом 30 хвилин. Після стерилізації композиції I та II передають до ТП.5.5

ДР 4.3.2. Підготовка та стерилізація композиції III

За допомогою електронних вагів зважуємо та додаємо 54 г монофосфату калію в колбу об'ємом 2л. Далі додаємо 1л питної води та стерилізуємо в автоклаві за температури 131 °С, при тиску 0,15 МПа протягом 30 хвилин. Після стерилізації композицію III передають до ТП.5.5

ДР 4.4. Приготування і стерилізація поживного середовища для вирощування у ферментаторі об'ємом 500 л

На даному етапі готуємо поживне середовище 270 л. Розрахунок усіх компонентів поживного середовища для культивування у ферментаторі наведено у *табл.4.1*.

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

ДР 4.4.1. Підготовка та стерилізація композиції I та II

За допомогою об'ємно-вагового дозатора додаємо 5400 г глюкози та, за допомогою технічних вагів, зважуємо та додаємо 270 г дріжджового екстракту, 1080 г сульфату амонію, 54 г сульфату магнію, 540 г цитрату натрію та 27 г гептагідрату сульфату заліза в інокулятор об'ємом 500 м³. Далі додаємо 267 л питної води та вмикаємо перемішуючий пристрій. Останнім етапом є стерилізація композиції за температури 121 °С, при тиску 0,1 МПа протягом 30 хвилин. Після стерилізації композиції I та II передають до ТП.6

ДР 4.4.2. Підготовка та стерилізація композиції III

За допомогою об'ємно-вагового дозатора додаємо 540 г монофосфату калію в інокулятор об'ємом 500 м³. Далі додаємо 270 л питної води та вмикаємо перемішуючий пристрій. Останнім етапом є стерилізація композиції за температури 131 °С, при тиску 0,15 МПа протягом 30 хвилин. Після стерилізації композицію III передають до ТП.6.

ТП 5. Підготовка посівного матеріалу

ТП 5.1. Підтримання колекційної культури

Продуцент *E. coli* TRTH0709 вирощується на середовищі Лурія-Бертані (LB) за температури 4 °С. Пересіви культури мають відбуватися кожен квартал з підтримкою асептичних умов культивування.

ТП 5.2 Отримання робочої культури

Колекційну культуру від ДР.5.1 пересівають на дві пробірки та інкубують у термостаті 8 год за температури 38 °С.

ТП 5.3 Вирощування культури в колбах на качалках.

Беремо стерильну колбу на 500 мл і у боксі вносимо в неї 150 мл композиції I (від ДР.4.1.1), 100 мл композиції II (від ДР.4.1.2), 50 мл композиції III (від ДР.4.1.3).

У пробірку з культурою штаму *E. coli* TRTH0709 (від ТП.5.2) додаємо 5 мл фізіологічного розчину та суспендуємо. Після цього відбирають з пробірки 30 мл суспензії мікроорганізмів та переносять у колбу зі змішаних копозицій I, II та III. Культура росте у колбі на качалці з інтенсивністю

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

перемішування 200 об/хв протягом 8 годин. Оптична густина (600нм) культури повинна бути в межах 0,4-0,6.

ТП 5.4 Вирощування культури в інокуляторі об'ємом 5 л.

У вимитий та простерилізований інокулятор об'ємом 5 літрів, враховуючи коефіцієнт заповнення 0,6, самопливним способом через засівну колбу вносимо поживне середовище від ТП.5.3, які попередньо змішали у колбі в стерильному боксі. Після чого у колбу на 5 л додаємо композиції I, II та III (від ДР.4.2.1, ДР.4.2.2, ДР.4.2.3), які були простерилізованими в автоклаві, та додаємо у інокулятор. Регулюємо рН середовища, що має становити 6,8-7,4, за допомогою титрувального 6% розчину NaOH (від ДР.3.2) та/або 6% розчину HCl (від ДР.3.1). Далі додаємо у готове поживне середовище посівний матеріал 270 мл (від ТП.5.2) крізь засівну колбу.

Культивування проходить при температурі 38°C, з інтенсивністю перемішування 200 об/хв протягом 8 годин. Оптична густина (600нм) культури повинна бути в межах 0,4-0,6.

ТП 5.5 Вирощування культури в інокуляторі об'ємом 50 л

У інокуляторі є вже стерильна композиція (від ТП.5.4). Самопливним способом та через засівну колбу вносимо композиції композиції I, II та III (від ДР.4.3.1, ДР.4.3.2, ДР.4.3.3) об'ємом 27 л, які були простерилізованими в автоклаві. Регулюємо рН середовища, що має становити 6,8-7,4, за допомогою титрувального 6%-ого розчину NaOH (від ДР.3.2) та/або 6%-ого розчину HCl (від ДР.3.1). Після чого вносимо 3 л посівного матеріалу від ТП.5.2.

Культивування проходить при температурі 38°C, з інтенсивністю перемішування 200 об/хв протягом 8 годин. Оптична густина (600нм) культури повинна бути в межах 0,4-0,6.

ТП 6. Виробничий біосинтез

ТП 6.1. Виробничий біосинтез

У ферментатор об'ємом 500 л з культурою від ТП.5.7 самопливним способом додаються композиції від ДР.4.4.1, ДР.4.4.2, об'ємом 270 л, які були простерилізованими в автоклаві. Регулюємо рН середовища, що має

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

становити 6,8-7,4, за допомогою титрувального 6% розчину NaOH (від ДР.3.2) та/або 6% розчину HCl (від ДР.3.1). Після чого вносимо 30 л посівного матеріалу (від ТП.5.2).

Температура культивування становить 38°C, з інтенсивністю перемішування 220 об/хв протягом 40 годин. Кожні 4 години проводиться мікробіологічна перевірка концентрації біомаси та контроль синтезу l-триптофану (35,9 г/л). Також контролюємо чистоту ферментування та запобігаємо попадання чужорідної культури у процес.

ТП 7. Зберігання культуральної рідини

ТП 7.1. Зберігання культуральної рідини

Культуральна рідина біосинтезу відбирають насосом та подають у збірник для зберігання при температурі 20-25 °C до початку стадій очищення продукту.

ЗВ 8. Знешкодження відходів

ЗВ 8.1. Знешкодження рідких відходів

Отримані залишки титрувальних розчинів (від ДР 3.1, ДР 3.2) утилізуються шляхом направлення на очисні споруди.

ЗВ 8.2. Знешкодження твердих відходів

Тверда біомаса, яка залишається після біосинтезу, утилізується.

Осад (від ДР 1.2.1), що залишився після проціджування хлорного вапна утилізується.

ЗВ 8.3. Знешкодження повітряних відходів

Повітряні відходи, які утворилися від інокуляторів та ферментера (від ТП.5.5, ТП 5.6, ТП 5.7, ТП 6.1), утилізуються шляхом відправки у системи очищення повітряних відходів.

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

Висновки до розділу 4

Кожна стадія технологічного процесу та допоміжних робіт допомагає теоретично розрахувати процес утворення триптофану промисловим шляхом. Виробництво передбачає попередню санітарно-гігієнічну підготовку, що забезпечує безпеку персоналу, чистоту приміщень та якість продукту; повітропідготовку; підготовку титрувальних розчинів; приготування та стерилізацію поживних середовищ. До технологічних етапів виробництва відносимо підготовку посівного матеріалу, стадії нарощування об'єму культури, етап біосинтезу триптофану. Технологією передбачено також стадію утилізації усіх типів відходів.

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

РОЗДІЛ 5

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

5.1 Методи контролю культуральної рідини в процесі біосинтезу

Кожні 4 години проводиться мікробіологічна перевірка концентрації колонієутворюючих одиниць (КУО) для контролю синтезу l-триптофану. До того ж проводиться контроль концентрації компонентів поживного середовища, тобто його вміст глюкози, азоту, неорганічних солей. КУО, яке визначається через відбір зразка та його подальше розведення. Розведений розчин культури вливають на агарну пластину та підраховують кількість утворених видимих колоній. Дане число множать на коефіцієнт розведення та у результаті мають отримати $KYO \approx 10^9 - 10^{10}$.

Для перевірки концентрації поживного середовища використовують метод рідинної хроматографії (LCMS), який базується на окисно-відновних реакціях компонентів середовища з ферментами, які можна побачити за допомогою датчиків, як от глюкозний датчик для вирахування концентрації глюкози [28].

5.2 Методи контролю на стадіях біосинтезу

При виробництві цільового продукту, важливо контролювати те, як проводиться біосинтез та його ключові та підготовчі елементи. До контрольних точок виробництва входять мікробіологічний контроль (мк), хімічний контроль (хк) та технологічний контроль (тк).

					КР.ПЗ.162.03			
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата				
Розробив		Головач І.С.			РОЗДІЛ 5. КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ	Літ.	Аркуш	Аркушів
Перевірив		Охмат О.А.				Д	52	2
						КНУТД, ББТ-21		
Н.Контр.								
Затвердив								

До мікробіологічного контролю, який охоплює такі процеси, як підготовка та стерилізація поживного середовища та безпосередньо біосинтез триптофану, відноситься перевірка на чистоту шляхом відбору проби композицій та їх подальше засівання на чашки Петрі у поживному середовищі Лурія-Бертані. Після чого бактерії вирощують у термостаті при температурі 37 °С. Результатами успішного мікробіологічного контролю можна вважати відсутність сторонньої мікрофлори у зразку.

До хімічного контролю відносяться методи, які контролюють концентрації приготовлених сумішей. Після приготування розчину, відбирається його зразок та титриметричним аналізом визначається концентрація сумішей. Це стосується таких етапів виробництва, як підготовка дизінфікуючих засобів чи приготування титрувальних розчинів.

До технологічного контролю відноситься перевірка параметрів процесу, тобто моніторинг температури, вологості повітря, тиску, часу проведення процедури тощо. Технологічний контроль стосується тих етапів, де фігурують апарати, прилади та інше обладнання, яке також потребує правильної експлуатації.

Висновки до розділу 5

Для забезпечення гартності якості на виробництві впроваджується система контролю якості, основними показниками якого є чистота вирощеної культури на усіх етапах біосинтезу, дотримання санітарно-гігієнічних умов, умов стерилізації та біосинтезу та контроль коректності експлуатації обладнання на виробництві. Кожен компонент та параметр, що входить у систему технологічного процесу має слідувати стандартам. Необхідно запобігати будь-яким відхиленням від норм умов введення виробництва та підтримки біосинтезу.

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

ВИСНОВКИ

1. Триптофан, як сировина мікробного синтезу, відіграє важливу роль у житті людини, оскільки він є однією із незамінних амінокислот, впливає на психічний та емоційний стан людини, регулюючи сон, апетит, покращення настрою, підвищення енергійності. А зважаючи на те, що станом на 2024 рік в Україні офіційно депресію діагностовано у 6,3% населення, тема роботи є актуальною.

2. Проведено порівняння ефективності штамів *Corynebacterium glutamicum* ATCC 2185, *Pediococcus acidilactici* TP-6, *Escherichia coli* TRTH0709, *Escherichia coli* GPT1002 для реалізації біосинтезу триптофану. Виявлено, що культивування штаму *Escherichia coli* TRTH0709 сприятиме збільшенню обсягів біосинтезу триптофану з одночасним зменшенням витрат на реалізацію технології біосинтезу.

3. Проведено основні розрахунки потужності підприємства для здійснення біосинтезу триптофану.

4. Обґрунтовано схему біосинтезу триптофану, що включає стадії допоміжних робіт, стадію біосинтезу, стадію знешкодження відходів. Розроблено технологічну схему біосинтезу триптофану.

5. Обґрунтовано методи контролю на виробництві, які передбачають здійснення технологічного, мікробіологічного та хімічного контролів.

					КР.ПЗ.162.03			
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата				
Розробив	Головач І.С.				ВИСНОВКИ	Літ.	Аркуш	Аркушів
Перевірів	Охмат О.А.					Д	54	1
Н.Контр.								
Затвердив						КНУТД, ББТ-21		

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Tryptophan. National Library of Medicine. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Tryptophan> (дата звернення: 27.03.2025).
2. Palego L., Betti L., Rossi A., Giannaccini G. Tryptophan Biochemistry: Structural, Nutritional, Metabolic, and Medical Aspects in Humans. *Journal of Amino Acids*. 2016. 8952520. doi: 10.1155/2016/8952520.
3. Richard D.M., Dawes M.A., Mathias C.W., Acheson A., Hill-Kapturczak N., Dougherty D.M. L-Tryptophan: Basic Metabolic Functions, Behavioral Research and Therapeutic Indications. *International Journal of Tryptophan Research*. 2009. № 23;2. P. 45–60. doi: 10.4137/ijtr.s2129.
4. Boyd W.J., Robson W. The synthesis of amino-acids: Tryptophan. *Biochemical Journal*. 1935. № 29(10). 2256-8. doi: 10.1042/bj0292256.
5. Morgane Modoux, Nathalie Rolhion, Sridhar Mani, Harry Sokol. Tryptophan Metabolism as a Pharmacological Target. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2021. 42(1). P. 60–73. doi.org/10.1016/j.tips.2020.11.006.
6. Brewerton T.D., Reus V.I. Lithium carbonate and L-tryptophan in the treatment of bipolar and schizoaffective disorders. *American Journal of Psychiatry*. 1983. № 140(6). P. 757–60. doi: 10.1176/ajp.140.6.757.
7. Kikuchi A.M., Tanabe A., Iwahori Y. A. systematic review of the effect of L-tryptophan supplementation on mood and emotional functioning. *Journal of Dietary Supplements*. 2021. № 18(3). P. 316–333. doi:10.1080/19390211.2020.1746725.
8. Klaessens S., Stroobant V., De Plaen E., Van den Eynde B.J. Systemic tryptophan homeostasis. *Frontiers in Molecular Biosciences*. 2022. №14. 9. P. 897929. doi: 10.3389/fmolb.2022.897929.

					КР.ПЗ.162.03			
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата				
Розробив	Головач І.С.				СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	Літ.	Аркуш	Аркушів
Перевірів	Охмат О.А.					Д	55	4
						КНУТД, ББТ-21		
Н.Контр.								
Затвердив								

9. NAD/NADH and NADP/NADPH. AAT Bioquest. URL: <https://www.aatbio.com/catalog/nicotinamide-adenine-dinucleotide-nad-nadh-nadp-nadph-indicators-probes-quantification-kits>(дата звернення: 27.10.2024).

10. World population review. Depression rates by country 2024. URL: <https://worldpopulationreview.com/country-rankings/depression-rates-by-country> (дата звернення: 25.03.2025).

11. Депресія. Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги. Державний експертний центр. Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 25 грудня 2014 року № 1003. URL: https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2019/11/2014_1003_ukpmd_depresiya.pdf (дата звернення: 27.10.2024).

12. Чисельність населення по районах (попередні дані) на 1 лютого 2022 року. Головне управління статистики у м. Києві. URL: <http://www.kyiv.ukrstat.gov.ua/p.php3?c=1123&lang=1> (дата звернення: 27.10.2024).

13. Ren Xinru, Wei Yue, Zhao Honglu, Shao Juanjuan, Zeng Fanli, Wang Zhen, Li Li. A comprehensive review and comparison of L-tryptophan biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae* and *Escherichia coli*. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2023. №11. doi:10.3389/fbioe.2023.1261832.

14. Julia Tröndle, Kristin Schoppel, Arne Bleidt, Natalia Trachtmann, Georg A. Sprenger, Dirk Weuster-Botz. Metabolic control analysis of L-tryptophan production with *Escherichia coli* based on data from short-term perturbation experiments. *Journal of Biotechnology*. 2020. № 307. P. 15–28. doi.org/10.1016/j.jbiotec.2019.10.009.

15. Ye Heng Lim, Abdul Rahim. Rapid Evaluation and Optimization of Medium Components Governing Tryptophan Production by *Pediococcus acidilactici* TP-6 Isolated from Malaysian Food via Statistical Approaches. *Molecules*. 2020. 25(4), 799. doi:10.3390/molecules25040779.

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

16. Nyeste László. Production of L-tryptophan by microbial processes. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. 2005. №26. P. 175–202. doi:10.1007/BFb0001863.

17. Gu P., Yang F., Kang J. One-step of tryptophan attenuator inactivation and promoter swapping to improve the production of L-tryptophan in *Escherichia coli*. *Microbial Cell Factories*. 2012. № 30. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-11-30>.

18. Gu P., Yang F., Li F. Knocking out analysis of tryptophan permeases in *Escherichia coli* for improving L-tryptophan production. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2013. № 97(15). 6677-83. doi:10.1007/s00253-013-4988-5.

19. Martina D'Este, Merlin Alvarado-Morales, Irini Angelidaki. Amino acids production focusing on fermentation technologies – A review. *Biotechnology Advances*. 2018. Volume 36, Issue 1. P. 14–25.

20. Lanny D. Schmidt. *The Engineering of Chemical Reactions*: New York: Oxford University Press. 1998. P. 245–260.

21. Tong Shen, Qing Liu, Xixian Xie, Qingyang Xu, Ning Chen. Improved Production of Tryptophan in Genetically Engineered *Escherichia coli* with TktA and PpsA Overexpression. *BioMed Research International*. 2012. Issue 1. <http://doi.org/10.1155/2012/605219>.

22. Данилов І.П., Самойленко С.І. Апарати мікробіологічної промисловості : навч. посіб. Харків : НТУ «ХПІ», 2008. 272 с.

23. Гігієна та санітарія. Конспект лекцій. Київський національний університет технологій та дизайну. URL: https://msnp.knutd.edu.ua/pluginfile.php/524075/mod_resource/content/1/%D0%93%D1%96%D0%B3%D1%96%D1%94%D0%BD%D0%B0_%D0%BA%D0%BE%D0%BD%D1%81%D0%BF%D0%B5%D0%BA%D1%82%20%D0%BB%D0%B5%D0%BA%D1%86%D1%96%D0%B9%202023-2024.pdf (дата звернення 06.03.2025).

24. Method of improving stability of concentrated hydrogen peroxide in contact with stainless steel and aluminum alloys. Пат. US2782100A США: Frank

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		

P. Greenspan, Buffalo, N. Y., assignor, by mesne assignments, to Food Machinery and Chemical Corporation, San Jose, Calif., a corporation of Delaware; заявл. 13.01.1951; опубл. 19.02.1957 Бюл. № 205,968; 1 Claim (Cl. 23-207.5).

25. Process for the preparation of L-tryptophan. Пат. 5776740 США: 435/108; 435/42; 435/172.3; 435/252.32 US5776740A, заявл. 07.07.1998; опубл. 17.07.1996, 11 с.

26. National Library of Medicine. Escherichia coli. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/taxonomy/562/>.

27. Basavaraju M., Gunashree B.S. Escherichia coli: An Overview of Main Characteristics 28. *IntechOpen*. 2022. P. 21. DOI: 10.5772/intechopen.105508

28. Meng Zhang, Caizhi Liao. Highly sensitive glucose sensors based on enzyme-modified whole-graphene solution-gated transistors. *Scientific reports*. 2015. № 5, 8311. <https://doi.org/10.1038/srep08311>

					КР.ПЗ.162.03	Аркуш
Зм.	Аркуш	№ Документа	Підпис	Дата		





**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА БІОТЕХНОЛОГІЇ**

**MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY
DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY**

**ПРОБЛЕМИ ТА ДОСЯГНЕННЯ
СУЧАСНОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ**

**PROBLEMS AND ACHIEVEMENTS
OF MODERN BIOTECHNOLOGY**

**Матеріали
V міжнародної науково-практичної
конференції**

**Materials
of the V International Scientific and Practical
Conference**

**ХАРКІВ
KHARKIV
2025**

**Роль L-триптофану у покращенні продуктивності росту та розвитку
сільськогосподарських культур**

Головач І. С., Волошина І. М.

Київський національний університет технологій та дизайну, м. Київ, Україна
hatsyahonest@gmail.com

L-триптофан є незамінною амінокислотою, чия головна функція в живих організмах полягає у регуляції синтезу білка як у тварин, так і у рослин. У організмі рослин триптофан впливає на регулятори росту, наприклад на фітогормони. Індол-3-оцтова кислота (ІОК) є одним із найпоширеніших та найвивченіших ендогенних ауксинів, чий біосинтез у рослинах відбувається триптофан-залежним шляхом. При дослідженні впливу триптофану на

158

життєдіяльність рослин використовують як екзогенні, так і ендогенні методи. Ендогенними методами вважається введення мікроорганізмів, що синтезують І-триптофан локально у листя, пагони або безпосередньо у ґрунт, залежно від того, де саме передбачається збільшення біосинтезу ауксину. Ендогенна регуляція ауксину передбачає регуляцію експресії генів рослини, що відповідають за регуляцію синтезу ауксину у відповідних ділянках рослини шляхом рекомбінації трансляційних ліній синтезу. Результати досліджень показують, що для найефективнішого регулювання росту та розвитку рослини необхідно опиратися на синтез ауксину ІОК через триптофан-залежний шлях. У рослин І-триптофан також має фітостимулюючий ефект через вміст азоту, який виділяється при розкладанні амінокислоти у рослині. Це може бути додатковим фактором продуктивності росту культур рослин.

Застосування композицій L-триптофану для синтезу ауксинів в сільськогосподарській діяльності є актуальною темою для вивчення, оскільки сільське господарство потребує екологічно безпечних шляхів підвищення врожайності та стресостійкості культурних рослин і є безпечною альтернативою добривам. Таким чином вивчення впливу І-триптофану, як попередника рослинних індольних сполук, таких як ІОК, є перспективним у майбутніх дослідженнях в напрямку сучасної зеленої біотехнології.