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 глюконової кислоти»

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

Виконала: студентка групи ББТ-22
Сенечко Л. П.
Науковий керівник:
к.т.н., доц. Охмат О. А.
Рецензент: к.т.н., доц. Волошина І. М.

Київ 2026

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

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

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач кафедри БШХ

_____ Олена МОКРОУСОВА
«___»_____20___ р.

ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ СТУДЕНТУ
Сенечко Людмилі Петрівні

1. Тема кваліфікаційної роботи: **Технологія біосинтезу глюконової кислоти**
Науковий керівник роботи Охмат Олена Анатоліївна, к.т.н., доц.
затверджені наказом КНУТД від «17» 03 2026 року № 62-уч

2. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи. Завдання на бакалаврську кваліфікаційну роботу; наукова література щодо технологій біосинтезу глюконової кислоти; технологічні схеми промислового біосинтезу глюконової кислоти; 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 17.03.2026 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапу кваліфікаційної роботи	Орієнтовний терміни виконання	Примітка про виконання
1	Вступ	31.05.2026	
2	Розділ 1 Техніко-економічне обґрунтування	31.03.2026	
3	Розділ 2 Обґрунтування вибору технологічної схеми виробництва	30.04.2026	
4	Розділ 3 Характеристика біологічного агента	30.04.2026	
5	Розділ 4 Опис технологічної схеми	31.05.2026	
6	Розділ 5 Контроль якості	31.05.2026	
7	Висновки	31.05.2026	
8	Оформлення кваліфікаційної роботи (чистовий варіант)	03.06.2026	
9	Подача кваліфікаційної роботи науковому керівнику для відгуку (за 14 днів до захисту)	04.06.2026	
10	Подача кваліфікаційної роботи для рецензування (за 12 днів до захисту)		
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 _____ Людмила СЕНЕЧКО

Науковий керівник _____ Олена ОХМАТ

АНОТАЦІЯ

Сенечко Л. П. Технологія біосинтезу глюконової кислоти – Рукопис.

Кваліфікаційна робота за спеціальністю 162 «Біотехнології та біоінженерія». – Київський національний університет технологій та дизайну, Київ, 2026 рік.

Кваліфікаційну роботу присвячено технологічному та науковому обґрунтуванню промислової технології отримання глюконової кислоти мікробним синтезом.

Шляхом порівняльного аналізу промислових штамів обґрунтовано вибір мікроміцета *Aspergillus niger* CCM8004 як найбільш ефективного продуцента, що забезпечує концентрацію кислоти 150 г/л за 54 години ферментації. Запропоновано технологічну лінію на основі періодичного глибинного культивування у промисловому ферментері об’ємом 7м^3 .

Розроблено технологічну схему виробництва глюконової кислоти, яка охоплює основні етапи: підготовка посівного матеріалу, приготування та стерилізація поживного середовища, обробка аераційного повітря, процес біосинтезу. Проведено розрахунок кількості етапів вирощування інокуляту та здійснено вибір основного технологічного обладнання. Обґрунтовано параметри культивування продуцента, режими стерилізації поживного середовища та системи забезпечення асептичних умов процесу.

Ключові слова: глюконова кислота, *Aspergillus niger*, глюконат кальцію, біосинтез, дефіцит кальцію, глибинне культивування.

ABSTRACT

Senechko L. P. Technology of gluconic acid biosynthesis – Manuscript.

Qualification thesis on specialty 162 - Biotechnology and bioengineering. − Kyiv National University of Technology and Design, Kyiv, 2026.

The qualification thesis is devoted to the technological and scientific substantiation of the industrial technology for producing gluconic acid via microbial synthesis.

Through a comparative analysis of industrial strains, the selection of the micromycete *Aspergillus niger* CCM8004 was justified as the most efficient producer, ensuring an acid concentration of 150 g/L within 54 hours of fermentation. A technological line based on batch submerged cultivation in an industrial 7 m³ fermenter was proposed.

A technological scheme for gluconic acid production was developed, covering the main stages: preparation of inoculum, preparation and sterilization of the nutrient medium, treatment of aeration air, and the biosynthesis process. The number of inoculum growth stages was calculated, and the selection of the main technological equipment was carried out. The cultivation parameters of the producer, sterilization modes of the nutrient medium, and systems for ensuring aseptic process conditions were substantiated.

Keywords: gluconic acid, *Aspergillus niger*, calcium gluconate, biosynthesis, calcium deficiency, submerged cultivation.

ЗМІСТ

ВСТУП 9
РОЗДІЛ 1 ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ 12
1.1. Характеристика цільового продукту 12
1.1.2. Фізико-хімічні властивості глюконової кислоти 13
1.1.3. Застосування глюконової кислоти 13
1.2. Потреба у цільовому продукті 15
1.3. Розрахунок потужності виробництва 16
1.3.1. Розрахунок потужності виробництва глюконової кислоти *Aspergillus niger* CCM8004 17
1.4. Розрахунок кількості виробничих циклів отримання культуральної рідини та розрахунок об’єму ферментера. 18
Висновки до розділу 1. 19
РОЗДІЛ 2 ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИРОБНИЦТВА 20
2.1. Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування 20
2.2 Обґрунтування способу проведення біосинтезу 24
2.2.1 Обґрунтування вибору стадії підготовки аераційного повітря 28
2.2.2 Обґрунтування вибору мийних та дезінфікуючих засобів 28
2.3. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу, підготовка поживного середовища та параметри стерилізації 30
2.3.1. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу 30
2.3.2. Розрахунок кількості посівного матеріалу для вирощування культури в інокуляторі 700л 31

2.3.3. Розрахунок кількості посівного матеріалу для вирощування культури в інокуляторі 70 л 31
2.3.4. Розрахунок кількості посівного матеріалу для вирощування культури в інокуляторі 7 л 32
2.3.5. Розрахунок кількості посівного матеріалу для вирощування культури в колбах на качалці 33
2.4 Обґрунтування способу приготування і стерилізації поживного середовища для одержання інокуляту і виробничого біосинтезу 33
2.4.1. Розрахунок кількості поживного середовища для виробничого ферментера об'ємом 7 м³ 34
2.4.2. Розрахунок кількості поживного середовища для інокулятора об'ємом 700 л 36
2.4.3. Розрахунок кількості поживного середовища для інокулятора об'ємом 70 л 36
2.4.4. Розрахунок кількості поживного середовища для інокулятора об'ємом 7л 37
2.4.5. Розрахунок кількості посівного матеріалу для вирощування культури в колбах на качалці 38
Висновоки до розділу 2. 40
РОЗДІЛ 3 ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА 41
3.1. Таксономічний статус *Aspergillus niger* CCM8004 41
3.2. Морфолого-культуральні ознаки та фізіолого-культуральні ознаки продуцента 41
Висновок до розділу 3. 44
РОЗДІЛ 4 ОБҐРУНТУВАННЯ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ 45
Висновоки до розділу4. 65
РОЗДІЛ 5 КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ 66
5.1. Методики контролю на стадії біосинтезу. 66
5.2. Методи контролю глюконової кислоти 67

Висновок до розділу 5..... 68
ВИСНОВКИ..... 69
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ..... 70
ДОДАТКИ..... 74

ВСТУП

Актуальність теми. Глюконова кислота та її солі, такі як глюконат кальцію й глюконат натрію, є універсальними, безпечними, нетоксичними та екологічно чистими сполуками, широко затребуваними в харчовій, медичній, хімічній та будівельній промисловості. Особливо значущим є використання глюконату кальцію у фармацевтичній галузі, де він слугує доступним і ефективним засобом для боротьби з гіпокальціємією, рахітом і дефіцитом вітаміну D. За статистикою, понад 80% дорослого населення України стикаються з браком вітаміну D, що нерідко супроводжується дефіцитом кальцію в організмі. З огляду на економічну недоцільність імпорту таких препаратів, розвиток і вдосконалення вітчизняної біотехнології виробництва глюконової кислоти за допомогою мікробного синтезу є надзвичайно важливим завданням. Це сприятиме забезпеченню фармацевтичного сектору України якісною та доступною сировиною.

Метою дослідження є обґрунтування та розробка оптимальної промислової технології біосинтезу глюконової кислоти з використанням високоефективного штаму-продуцента *Aspergillus niger* CCM8004 глибинним методом культивування.

Завдання дослідження:

1. Розробити техніко-економічне обґрунтування організації виробництва глюконової кислоти та виконати розрахунок його річної і добової потужності для задоволення 5% потреб цільового ринку України.

2. Здійснити порівняльний аналіз ефективності різних біологічних агентів та обґрунтувати вибір оптимального штаму і складу поживного середовища.

3. Обґрунтувати вибір технологічної схеми біосинтезу глюконової кислоти.

4. Розробити детальну технологічну схему отримання глюконової кислоти за допомогою *Aspergillus niger* CCM8004, що включає допоміжні роботи, безпосередній ферментаційний процес та заходи зі знешкодження відходів.

5. Запропонувати систему контролю якості глюконової кислоти.

Об'єкт дослідження: продуценти, які здатні синтезувати глюконову кислоту.

Предмет дослідження: технологічні параметри культивування *Aspergillus niger* CCM8004 його склад поживного середовища та умови умови ферментації.

Методи дослідження: аналіз наукової літератури, порівняльний аналіз, техніко-економічні розрахунки.

Наукова новизна одержаних результатів в комплексному обґрунтуванні технології біосинтезу глюконової кислоти із застосуванням мікроорганізму *Aspergillus niger* CCM8004. В ході порівняльного аналізу сучасних продуцентів було визначено найбільш ефективний штам, придатний для промислового виробництва. Розроблено і обґрунтовано технологічні параметри процесу культивування, підготовки посівного матеріалу, стерилізації поживного середовища, а також вибору відповідного технологічного обладнання для забезпечення виробництва глюконової кислоти із заданою продуктивністю.

Практичне значення одержаних результатів у розробленні технології виробництва глюконової кислоти, яка може бути використана під час проєктування або модернізації біотехнологічних підприємств.

Апробація отриманих результатів – XII Міжнародна науково-практична Інтернет-конференція здобувачів вищої освіти та молодих учених «Хімія і сучасні технології» (УДУНТ, м. Дніпро, 20-22.05.2026 р.).

За результатами роботи конференції **опубліковано** тези доповіді:

Сенечко Л. П., Шевчик О. М., Охмат О. А. Застосування глюконової та аскорбінової кислот у харчовій промисловості. *Хімія і сучасні технології. Секція VII «Хімічні технології харчових добавок та косметичних засобів,*

харчова хімія» : матер. XII Міжнар. наук.-практ. Інтернет-конф. здобув. вищої освіти та молодих учених (Дніпро, 20–22 травня 2026 року). Електрон. дані. Дніпро : УДУНТ, 2026. С. Друк. (Додаток).

Структура і обсяг кваліфікаційної роботи. Основна частина викладена на 64 сторінках і включає вступ, 5 розділів, висновки, список використаних джерел та додаток. У роботі представлено список використаних джерел, що налічує 32 найменувань.

Графічна частина роботи представлена технологічною схемою виробництва глюконової кислоти, виконаною на аркуші формату А1.

РОЗДІЛ 1
ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ

1.1. Характеристика цільового продукту

Глюконова кислота (2,3,4,5,6-пентагідроксикапронова кислота; хімічна формула $C_6H_{12}O_7$) є альдоновою кислотою, яка утворюється внаслідок окислення β -D-глюкози (рис. 1.1). У цьому процесі альдегідна група (-CHO) на атомі вуглецю С-1 перетворюється в карбоксильну групу (-COOH) за допомогою електрохімічного або каталітичного методу. Ця органічна кислота характеризується універсальністю та безпечністю: вона не викликає корозії, має помірну кислотність, не подразнює шкіру, не має запаху, нетоксична та швидко біорозкладається. Завдяки своїм властивостям глюконова кислота представляє великий інтерес для багатьох сфер застосування.

Як багатофункціональна кислота, віднесена до масових хімічних речовин, вона разом зі своїми солями (зокрема, солями лужних металів, особливо глюконатом натрію) і формою глюконолактону широко використовується у різних галузях. Серед них варто виділити хімічну, фармацевтичну, харчову, будівельну промисловості та багато інших [1, 2].

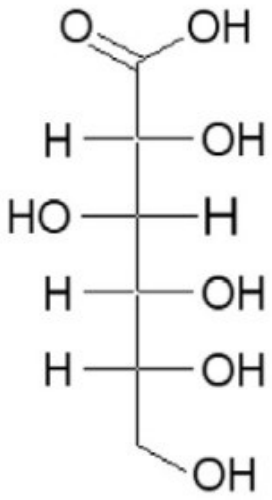

Рис. 1.1 –Структурна формула глюконової кислоти [3]

Глюконова кислота природним чином міститься в рослинах, фруктах, вині (до 0,25%), меді (до 1%), рисі, м'ясі, та в інших продуктах. Фізіологічно активна D-форма глюконової кислоти зазвичай утворюється в результаті мікробного окислення глюкози [1].

На сьогднішній день відомі такі продуценти глюконової кислоти, як мікроміцети: *Aspergillus niger* та *Penicillium chrysogenum, Penicillium notatum, Penicillium glaucum, Penicillium amagasakiense, Penicillium funiculosum, Candida tenuis* та *Tricholoma robustum;* бактерії: *Pseudomonas fluorescens, Pseudomonas ovalis, Pseudomonas acidovorans, Pseudomonas putida*, *Bacillus subtilis, Bacillus megaterium, Acetobacter methanolicus, Rhodotorula rubra, Streptococcus acidovorans, Streptococcus faecium,* та *Gluconobacter oxydans;* джрiжджі: *Aureobasidium pullulans* [2, 5].

1.1.2. Фізико-хімічні властивості глюконової кислоти

Глюконова кислота являє собою білі або жовтуваті кристали без запаху, які добре розчиняються у воді. Її молярна маса складає 196,16 г/моль, а температура плавлення дорівнює 131°C. Константа кислотної дисоціації при 25°C становить 3,70 [5].

1.1.3. Застосування глюконової кислоти

Глюконова кислота та її солі широко застосовуються у різних галузях промисловості та в у побуті. Ця багатофункціональна полігідроксикарбонова кислота, що має реакційноздатні гідроксильні та карбоксильні групи, вирізняється своїми універсальними фізіологічними й хімічними властивостями. Завдяки цим характеристикам, а також тому, що вона є слабкою кислотою, глюконова кислота разом із її солями (зокрема солями лужних металів, такими як глюконат натрію та глюконат кальцію) і похідною формою глюконолактону, знайшла широке застосування. Їх активно використовують у хімічній, фармацевтичній (наприклад, для усунення дефіциту заліза чи кальцію), харчовій, текстильній промисловості, у виробництві напоїв, засобів

для прання, у шкіряній промисловості, будівництві та багатьох інших сферах [1].

У харчовій промисловості глюконова кислота відома як добавка Е 574, яка виконує роль регулятора кислотності та розпушувача. У багатьох країнах її використання в харчових продуктах регламентується законодавством. Зазвичай глюконову кислоту та її похідні додають до молочних продуктів, напоїв і хлібобулочних виробів, щоб зберегти смакові якості та запобігти утворенню осаду. Наприклад, завдяки її хелатним властивостям, цю кислоту додають у сухе знежирене молоко для зменшення каламутності дисперсій.

У медичній галузі солі двовалентних металів, таких як кальцій, магній, залізо і цинк, утворені глюконовою кислотою, використовуються як мінеральні поживні речовини для боротьби з дефіцитом мікроелементів. Це допомагає у лікуванні захворювань, пов'язаних із нестачею цих елементів, таких як остеопороз, рахіт чи анемія у людей і тварин. Крім того, останні дослідження виявили, що глюконат кальцію в концентрації 1,25 ммоль/л (аналогічно концентрації вільних іонів кальцію у крові ссавців) може руйнувати антибіотикорезистентну біоплівку *Staphylococcus aureus*, перешкоджаючи формуванню матриці позаклітинної полімерної речовини [2, 6].

У металургії глюконат натрію застосовують для здійснення лужного видалення іржі, очищення забарвлених поверхонь, а також усунення утворень металевого карбонату без спричинення корозійних процесів. Крім того, ця сполука слугує добавкою до цементу, яка регулює тривалість його схоплювання. Вона покращує показники міцності та стійкості до впливу води, сприяє підвищенню морозостійкості цементу й знижує ризик формування тріщин [5]. Також глюконова кислота застосовується як хелатуючий агент при очищенні металів, входить до складу мийних засобів для обробки поверхонь, використовується в детергентах, при лужному травленні в металургії, а також для запобігання осадженню заліза в текстильній промисловості [1].

1.2. Потреба у цільовому продукті

Глюконат кальцію – це сполука, яка застосовується для швидкого поповнення рівня кальцію в крові у разі гіпокальціємії шляхом введення внутрішньовенним шляхом або орально. Гіпокальціємія спостерігається у 15-88% госпіталізованих дорослих пацієнтів, залежно від способу визначення (сироватковий або іонізований кальцій). Основна частина кальцію в організмі знаходиться в кістках, тоді як лише близько 1% загального запасу кальцію бере участь в обміні з позаклітинною рідиною.

Близько 40% циркулюючого кальцію зв'язується з білками, такими як альбумін, тоді як приблизно 50% перебуває у фізіологічно активній формі. Решта 10% кальцію формує комплекси з аніонами, утворюючи солі кальцію. Клінічні прояви гіпокальціємії залежать як від ступеня зниження рівня кальцію в сироватці крові, так і від швидкості цього зниження. Симптоми гіпокальціємічного кризу зазвичай виникають, коли концентрація іонізованого кальцію опускається до рівня 2,8 мг/дл (0,7 ммоль/л) [6].

Симптоми включають парестезії в ділянці рота, м'язові спазми, міалгію, дисфагію, депресію, сплутаність свідомості, дратівливість, судоми, тетанію, ларингоспазм і гіпотензію. При фізичному обстеженні часто виявляють гіперрефлексію. На електрокардіограмі (ЕКГ) гіпокальціємія характеризується подовженням інтервалу QT – періоду, що визначається від початку комплексу QRS до кінця зубця T. Інтервал QT іноді називають електричною систолою шлуночків. Хоча клінічне значення цих змін не повністю встановлено, порушення рівня кальцію рідко стає причиною зупинки серця. Аномалії ЕКГ, такі як подовжений інтервал QT, зазвичай коригуються шляхом внутрішньовенного введення глюконату кальцію, який сприяє нормалізації цього показника. [6].

Гіпокальцемія тісно пов'язана з рахітом та дефіцитом вітаміну D. Основні причини виникнення рахіту включають недостатнє надходження вітаміну D з їжею, зниження його синтезу в шкірі під впливом ультрафіолетового випромінювання, а також брак кальцію, фосфору, мікроелементів, білка та

деяких амінокислот у періоди антенатального та постнатального розвитку. Дефіцит вітаміну D3, незалежно від його походження – екзогенного чи ендогенного, призводить до дисфункції основних систем, що регулюють рівень кальцію в організмі. При гіповітамінозі D порушується процес засвоєння кальцію та фосфору у кишківнику, зменшується їх реабсорбція в нирках, а також знижується вироблення кальцієзв'язувального білка. Внаслідок цього рівень кальцію і фосфору в сироватці крові й клітинах організму стає недостатнім [7].

Згідно з даними Національного фармацевтичного університету (кафедри фармакології та клінічної фармації) в Україні гостру нестачу вітаміну D в організмі має 81,8% дорослого населення [7, 8]. Можна вважати, що цей відсоток також вказує на відсоток людей які страждають на гіпокальцемію, так як раніше було сказано, що при дифіциті вітаміну D вміст кальцію також зменшується.

1.3. Розрахунок потужності виробництва

Глюконат кальцію належить до числа доступних за ціною лікарських засобів, тому його активно виробляють в Україні. Закупівля або імпорт цього препарату з-за кордону є економічно недоцільним, отже, в українських аптеках переважно представлені ліки вітчизняного виробництва.

Серед основних виробників фармацевтичного глюконату кальцію варто відзначити такі компанії: ПРАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця», ПАТ «Монфарм», ПАТ «Галичфарм», АТ «Лубнифарм», ПАТ «Фармак», ТОВ «Юрія-Фарм» та інші.

Розрахуємо річну потребу глюконату кальцію яку необхідно виробити в рік, щоб забезпечити потреби населення, яке страждає від дефіциту кальцію. Спосіб застосування даного препарату становить – по 2-6 таблеток (1-3 г препарату) 2-3 рази на добу. Курс лікування становить – 14 днів. 1 таблетка містить 500 мг глюконату кальцію [9].

4 × 2 × 14= 112 табл – кількість таблеток необхідна на 1 курс для

лікування чи профілактики.

Оскільки, 1 таблетка містить 500мг глюконату кальцію, то маємо, 112×500мг=56 000мг або 56 г – кальцій глюконату необхідно на один курс лікування.

Відомо, що станом на 2026 рік населення України становить близько 29 000 000 млн, а відсоток захорюваних становить 81,8, відповідно маємо:

29000000×81,8/100=23 722 000 – чисельність людей з дефіцитом кальцію.

Враховуючи, що виробництво в Україні глюконату кальцію в таблетках вже здійснюється що найменше 8 вище названими підприємствами, то ми хочемо забезпечити 5% всіххворіючих в Україні.

23 722 000×5/100= 1 186 100 – кількість населення, яке ми будемо забезпечувати глюконатом кальцію.

Так як відомо кількість глюконату кальцію на 1 курс та відома кількість населення яке ми будемо забезпечувати препаратом, то можемо розрахувати річну потребу в препараті:

1 186 100 ×56= 66 421 600г або 66 421,6 кг/рік

Таким чином, для забезпечення 5% людей з гіпокальцемією в Україні на рік кількість глюконату кальцію становить **66 421,6** кг.

1.3.1. Розрахунок потужності виробництва глюконової кислоти *Aspergillus niger* CCM8004

Встановлено, що за 54 год штам *A. niger* CCM8004 синтезує 150 г/л глюконової кислоти [10].

Визначаємо об’єм культуральної рідини, необхідний для отримання 66 421,6 кг глюконової кислоти:

Vкр = 66 421 600г / 150 г/л= 442 811л

1.4. Розрахунок кількості виробничих циклів отримання культуральної рідини та розрахунок об’єму ферментера.

Врахвуючи кількість культуральної рідини необхідної для забезпечення річної потреби розрахованої в *п. 1.3.1.* ми можемо провести наступні розрахунки.

Визначимо добову норму виробництва продукту (Vд). Кількість робочих днів у році (Трд) становить 330 днів, тоді маємо:

$$Vд = \frac{Vкр}{Трд} = \frac{442811}{330} = 1341{,}8 = 1342л$$

Визначаємо кількість виробничих циклів на рік, враховуючи що тривалість повного виробничого циклу у ферментері (Тцф), становить 60 годин та охоплює такі послідовні етапи: миття й огляд обладнання (1,5 години), перевірка герметичності (0,5 години), процеси підігріву та стерилізації (1,5 години), охолодження (0,5 години), завантаження поживного середовища (1,5 години), внесення бактеріальної культури (0,5 години) та основний етап – ферментація, що триває 54 годин.

$$Nц = \frac{Vкр}{Vд \times \frac{Тцф}{24}} = \frac{442811}{1342 \times \frac{60}{24}} = 131{,}9 = 132 \text{ цикли}$$

Далі розрахуємо кількість культуральної рідини за один цикл, враховуючи що за 132 цикли маємо отримати 442 812 л культуральної рідини:

$$Vкр/ц = K1 \times Vд \times Тцф / 24 = 1{,}1 \cdot 1342 \cdot 60 / 24 = 3690{,}5 \text{ л/цикл}$$

де К1 – коефіцієнт, який вводиться для компенсації можливих відхилень від стерильних умов під час проведення операцій.

Однак, необхідно врахувати втрати в результаті краплевиносу, що становлять 10%:

$$Vроб1 = \frac{Vкр/ц}{1 - Еф} = \frac{3690{,}5}{1 - 0{,}1} = 4100{,}5л \approx 4101 \text{ л}$$

Висновки до розділу 1.

Розглянуто фізико-хімічні властивості, основні напрями застосування та промислове значення глюконової кислоти і її похідних. Встановлено перспективність використання продукту у фармацевтичній галузі для виробництва глюконату кальцію. На підставі аналізу поширеності дефіциту кальцію серед населення України визначено річну потребу у глюконаті кальцію на рівні 66,4 тис. кг. Здійснено розрахунок необхідної кількості глюконової кислоти, об'єму культуральної рідини та кількості виробничих циклів. Обґрунтовано використання ферментера робочим об'ємом 7 м³ для забезпечення заданої виробничої потужності.

РОЗДІЛ 2
ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИРОБНИЦТВА

2.1. Обґрунтування вибору біологічного агента та поживного середовища для його культивування

Основними організмами, що нині застосовуються для масштабного біологічного синтезу глюконової кислоти, є *Aspergillus niger* та *Gluconobacter oxydans*. Серед них найбільш поширеним у виробничих процесах є використання гриба *Aspergillus niger*. Основний науковий і промисловий інтерес у цьому контексті пов'язаний із отриманням таких продуктів, як глюконат натрію, глюконат кальцію та інших похідних, незалежно від того, чи в процесі синтезу залучаються гриби або бактерії [5].

Рівень синтезу глюконової кислоти варіюється в значних межах як серед різних продуцентів, так і серед штамів одного продуцента, залежно від умов культивування. Тому, щоб визначити найефективнішого продуцента серед трьох штамів: *Aspergillus niger* CCM8004, *Aspergillus niger* CIIMM276, *Gluconobacter oxydans* NCIM2095, необхідно провести їх порівняння. Цей процес буде здійснюватися у три етапи. На першому етапі обрані нами продуценти будуть оцінюватись за показниками синтезу глюконової кислоти, такими як концентрація кінцевого продукту, тривалість процесу і рівень продуктивності.

В табл. 2.1 представлено продуценти, для яких наведено основні показники синтезу та особливості технологічного процесу. При виборі даних біологічних агентів увага приділялась концентрації глюконової кислоти, та часу, за який вона утворюється.

Таблиця 2.1

Порівняльна таблиця продуцентів за показниками одержання глюконової кислоти

Продуцент	Показники синтезу		Тривалість процесу, год	Особливості технологічного процесу	Джерело
	Кількість цільового продукту, г/л	Продуктивність, г/л/год			
A. niger CCM8004	150	2,77	54	30°C pH 5,5-6,5 120/хв відбувається підживлення глюкозою 2 рази за ферментацію	[10]
A. niger CIIMM276	105	1,46	72	30°C pH 6,0	[11]
G. oxydans NCIM2095	44,7	0,50	90	30°C pH 6,5 Для підтримки pH додавали 1 M NaOH та 0,1 M HCl	[12]

Отже, проаналізувавши табл.2.1, маємо: *G. oxydans* NCIM2095 синтизує найменшу кількість глюконової кислоти 44,7 г/л за 90 годин, *A. niger* CIIMM2 76 синтезує за 72 години 105г/л. Найвищу кількість глюконової кислоти продукує штам *A. niger* CCM8004 150г/л за 54 години.

Порівнюючи показники продуктивності продуцентів, можемо сказати що найвищу продуктивність має продуцент *A. niger* CCM8004. Проте така порівняльна характеристика технологічного процесу є недостатньою. Тому, другим етапом буде порівняння вартості поживних середовищ для культивування обраних продуцентів (табл. 2.2).

З табл. 2.2 виходить шо середовище для культивування *G. oxydans* NCIM2095 є найдорощим, а середовище для культивування *A. niger* CIIMM2 76 має значно нижчу вартість. Продуцент *A. niger* CCM8004 має середню вартість поживного середовища.

Таблиця 2.2

Вартість поживних середовищ для культивування продуцентів

Продуцент	**Компонент поживного середовища, г/л**	**Ціна компонента, грн/кг**	**Вартість компонента (грн) на 1 л середовища**	**Джерело(1, 2, 3...)**
A. niger CCM8004	Глюкоза- 150	100	15	1
	$(NH_4)_2SO_4$ – 0,59	72	0,042	2
	KCl – 0,25	145	0,036	3
	KH_2PO_4 – 0,25	195	0,049	4
	$MgSO_4$×7H2O – 0,25	50	0,013	5
	$Ca(NO_3)_2$*4H2O – 1,0	70	0,07	6
	Кукурудзяний екстракт – 1,5 (мл / л)	150	0,225	7
	Вартість 1 л середовища − 15,435			
A. niger CIIMM2 76	Глюкоза – 100	100	10	1
	$MgSO_4$ – 0,3	50	0,015	5
	KH_2PO_4 – 0,2	195	0,039	4
	$(NH_4)_2HPO_4$ – 0,9	412	0,37	2
	$MnSO_4$ – 0,06	95	0,0057	9
	Вартість 1 л середовища − 10,4297			
G. oxydans NCIM2095	Дріжджовий екстракт – 20	6095	121,9	10
	Сорбітол – 50	147	7,35	11
	$(NH_4)_2HPO_4$ – 2	412	0,82	8
	$MgSO_4$×7H2O – 1	50	0,05	5
	$FeSO_4$ – 0,01	65	0,00065	12
	KH_2PO_4 – 3,5	195	0,68	4
	$Na_3C_6H_5O_7$×$2H_2O$ – 0,2	120	0,024	13
	Вартість 1 л середовища − 130,82465			

1. Глюкоза https://prom.ua/ua/p1511558517-glyukoza-pischevaya.html

2. $(NH4)_2SO_4$ https://prom.ua/ua/p1947550298-sulfat-amoniyu-amonij.html

3. KCl https://prom.ua/p1090607359-kalij-hloristyj-hlorid.html?utm_source=google_product&utm_medium=cpc&utm_content=pla&utm_campaign=KT_cpc_1_5297199152&gad_source=1&gclid=Cj0KCQjwsc24BhDPARIsAFXqAB0f0tOmL9-b_K-1selMJ5FB0SItrRXGqR47xlxRnWni75Jv7WcoUl0aAoW1EALw_wcB

4. KH_2PO_4 https://prom.ua/p1091383043-kalij-fosfornokislyj-zameschennyj.html?srsltid=AfmBOor5tZUeHUH_rSmVTrQpo2Eh772Yv0vY13GRtkjkISTJ8ET2HtU6XJk

5. $MgSO_{4\times}7H_2O$ https://prom.ua/ua/p2197997216-sulfat-magniyu1kg.html?utm_source=google_pmax&utm_medium=cpc&utm_content=pmax&utm_campaign=Pmax_cpa_1_50_b2b_265945592&gad_source=1&gclid=Cj0KCQjwsc24BhDPARIsAFXqAB384vrrf4YBcIsdmJSHK51DbhTytG83vLlic3ULbI98ou4YYIpTnnsaAut-EALw_wcB

6. $Ca(NO_3)_2\times4H2O$ https://prom.ua/ua/p1089906255-kaltsij-azotnokislyj-vodnyj.html

7. Кукурудзяний екстракт https://prom.ua/ua/p1467862582-csl-kukuruznyj-ekstrakt.html

8. $(NH_4)_2HPO_4$ https://prom.ua/p1823484159-ammonij-fosfornokislyj-zameschennyj.html

9. $MnSO_4$ https://himreagent.com.ua/ua/p1091474067-marganets-sernokislyj-sulfat.html

10. Дріжджовий екстракт https://shop.hlr.ua/drojjevoy-ekstrakt-500-g-conda-144107.html?gclid=CjwKCAjw1NK4BhAwEiwAVUHPUD-Sr572kkjGvDNBHqoMfj9LJ3bmIN_k6c1-awaaj0QmQmr9Y8gmPhoCb1UQAvD_BwE

11. Сорбітол https://prom.ua/p1515861416-sorbit-pischevoj.html?utm_source=google_pmax&utm_medium=cpc&utm_content=pmax&utm_campaign=Pmax_cpa_1_50_krasota_i_zdorove&gad_source=1&gclid=CjwKCAjw1NK4BhAwEiwAVUHPUBjV82Edp1CiOt04OrRM0jpmnJbRqrZJpywm6NxJozWIEFFCYAHa_xoCl5AQAvD_BwE

12. $FeSO_4$ https://prom.ua/p1090561770-zhelezo-sernokisloe-vodnoe.html?utm_source=google_product&utm_medium=cpc&utm_content=pla&utm_campaign=KT_cpc_1_5297199152&gad_source=1&gclid=CjwKCAjw1NK4BhAwEiwAVUHPUFVQNo1aXyORR0CaCZnsgXEo0ZGEq3D9JcYP2buIuMPx636Q3NZpZRoCVDoQAvD_BwE

13. $Na_3C_6H_5O_7$ $\times2H_2O$ https://prom.ua/p2067352078-tsitrat-natriya-paket.html?utm_source=google_product&utm_medium=cpc&utm_content=pla&utm_campaign=KT_cpc_1_5297199152&gad_source=1&gclid=CjwKCAjw1NK4BhAwEiwAVUHPUNJgLUNNgqqQ6CtjAr7qf8-6rLOz1lwgOHE-VTYcJDC5sONEwtEL4hoCafcQAvD_BwE

Третім етапом обґрунтування вибору продуцента буде порівняння за умовною вартістю 1 г синтезованої глюконової кислоти (табл. 2.3).

Таблиця 2.3

Умовна вартість 1 г глюконової кислоти при культивуванні

Штам	Вартість 1 л середовища, грн	Концентрація глюконової кислоти, г/л	Умовна вартість 1 г глюконової кислоти, грн	Тривалість культивування, год	Концентрація глюконової кислоти, синтезованої за год, г/л
A. niger CCM8004	15,44	150	0,103	54	2,77
A. niger CIIMM276	10,41	105	0,099	72	1,46
G. oxydans NCIM2095	130,82	44,7	2,921	90	0,50

Підсумовуючи табл. 2.1, табл. 2.2 і табл. 2.3, можна дійти висновку що, отримання глюконової кислоти за допомогою *Aspergillus niger* CCM8004 є найбільш доцільним в порівнянні з іншими продуцентами. Тому що, синтез кислоти цим продуцентом відбувається з найбільшою продуктивністю та найменшим часом культивування.

2.2 Обґрунтування способу проведення біосинтезу

Існують два методи проведення культивування: поверхневий та глибинний. На сьогодні більшість підприємств використовують саме глибинний метод, оскільки він має кілька переваг над поверхневим культивуванням, зокрема:

• забезпечує більшу площу контакту на одиницю об’єму;

• є більш компактним;

• більш ефективний і продуктивний.

Для культивування *A. niger* з метою виробництва глюконової кислоти більш доцільним є застосування глибинного методу в періодичному режимі.

Цей підхід має низку переваг: він не вимагає використання громіздкого обладнання, дозволяє збільшувати об’єм ферментаторів завдяки підвищенню їх висоти, спрощує технічне обслуговування апаратури та відкриває можливості для автоматизації процесів. Така автоматизація, в свою чергу, знижує потребу в людській праці й мінімізує ризик помилок, що можуть виникнути внаслідок людського фактору, а також спрощує процес виділення цільового продукту з культуральної рідини. Глибинне культивування також сприяє здешевленню кінцевого продукту, скороченню тривалості технологічного циклу та значно полегшує підтримання асептичних умов у промислових умовах. Слід зазначити, що даний метод забезпечує підвищену продуктивність. Поверхневий метод культивування, навпаки, має суттєві недоліки. Він ускладнює підтримання асептичних умов, потребує значних площ, обмежує можливості автоматизації через громіздкість обладнання й знижує вихід цільового продукту, що робить його економічно менш доцільним [13].

Культивування продуцента *A. niger* CCM8004 відбувається в аеробних умовах (при постійній аерації 8л/хв), при температурі 30 С та pH 5,5-6,5 (для контролю pH використовують NaOH та HCl), тривалість культивування становить 54 години [10].

Для того, щоб визначити який саме тип ферментера необхідний для культивування *A. niger* CCM8004 треба розглянути всі морфолого − культуральні та фізіолого – біохімічні особливості даного продуцента.

Раніше ми встановили, що основні вимоги до ферментера для культивування продуцента включають: забезпечення асептичних умов під час процесу, інтенсивну аерацію, використання типу мішалки, яка відповідає характеристикам міцеліального мікроорганізму, а також ефективну тепло- та масопередачу, актуальну для даного випадку.

Ефективність розподілу повітря визначається вибором типу мішалки, швидкістю її обертання та фізико-хімічними властивостями середовища. Оскільки *A. niger* CCM8004 належить до міцеліальних грибів, правильний вибір мішалки є надзвичайно важливим для його культивування. Вона повинна

створювати такі умови, за яких міцелій залишатиметься цілим та неушкодженим під час процесу глибинного вирощування мікроорганізму.

Наразі перемішування в промислових ферментерах може здійснюється всім спектром відомих мішалок, що використовуються в рідкофазних системах але в біотехнології традиційно перевага віддається швидкісним – лопатевим, гвинтовим та турбінним, які працюють при в'язкості культуральної рідини не більше 50 Па×с.

Найпоширенішими типами мішалок є двоярусна турбінна мішалка, а також одно-, дво- або багатоярусна лопатева мішалка з кількістю лопатей від 4 до 12 і швидкістю обертання 120-200 об/хв. Окремо виділяється гвинтовий перемішуючий пристрій, який може працювати зі швидкістю обертання до 900 об/хв. Лопаті мішалок бувають прямими або вигнутими та можуть розташовуватися в кілька ярусів. Цей вибір обумовлений можливістю забезпечити високу швидкість масообміну при мінімальних витратах стерильного повітря, що вигідно відрізняє такі пристрої від апаратів із пневматичним перемішуванням [14].

Тому для нашого продуцента найвигідніше обрати гвинтовий перемішуючий пристрій зі швидкістю обертання до 900 об/хв, який забезпечить потрібне нам перемішування 50 об/хв [1].

Ще однією важливою умовою для культивування *A. niger* CCM8004 є інтенсивна аерація поживного середовища. Це здійснюється шляхом подачі повітря через барботер, розташований у нижній частині ферментера. Він забезпечує безперервну подачу стерильного повітря та додаткове перемішування, що підвищує ефективність процесу культивування.

Також культивування відбувається з контролем рівня pH, тому на ферментері необхідно встановити датчик контролю за pH середовища.

Оскільки продуцент культивується при температурі 30°C, ферментер повинен бути оснащений тепловою сорочкою, в яку подається гаряча або холодна вода під час культивування. Це дозволяє контролювати температуру в процесі культивування та регулювати її, збільшуючи або зменшуючи

відповідно до потреб.

Отже, підсумовуючи, можна стверджувати, що ферментер повинен відповідати низці ключових вимог. Зокрема, обов'язковою є підтримка асептичних умов, наявність барботера, теплової сорочки. Додатково, ферментер має бути оснащений датчиком для моніторингу рівня pH та температури, а також гвинтовим перемішувальним механізмом для забезпечення оптимального процесу змішування.

Тож, враховуючи всі наші вимоги та заплановані потужності виробництва доцільно буде використовувати ферментер об'ємом 7м^3. Ферментер такого об'єму може бути придбаний у компанії «Czech Brewery System s.r.o.», Чехія. Ферментер серії CCT-SHP3-6000DE повністю відповідає нашим виогам (рис. 2.1).

Рис. 2.1 – Приклад ферментеру компеанії «Czech Brewery System s.r.o.», Чехія (серія CCT-SHP3-6000DE) [15]

Даний ферментер онащений датчиками контролю рівня pH, температури, рівня розчиненого кисню. Також в конструкції ферментера даної серії передбачається системи CIP-мийки. Також за потреби можна змінювати тип мішалки та системи терморегуляції в залежності від умов культивування [15].

2.2.1 Обґрунтування вибору стадії підготовки аераційного повітря

Aspergillus niger CCM8004 є аеробом, одною з головних умов культивування є подача стерильного повітря. Зважаючи на це, ферментер повинен бути обладнаний барботером для подачі стерильного повітря.

Забір атмосферного повітря здійснюють на висоті не менше 20–30 м, оскільки на цьому рівні концентрація мікроорганізмів у повітрі стабільно низька. Для забору повітря використовується повітрозбірник.

Зібране повітря подається на фільтри грубого очищення, де відбувається його очищення від пилу та механічних домішок. На цьому етапі використовується фільтр з ефективністю 90%.

Після чого відбувається компресування повітрі при високих температурах, де знищується більшість мікроорганізмів. Наступним етапом є охолодження повітря та видалення вологи, після чого повітря повторно підігрівається та подається на головний фільтер, де ефективність очистки становить 95%.

Після стадії очищення на головному фільтрі - очищене повітря подають на індивідуальні фільтри тонкого очищення, які встановлені безпосередньо перед посівним апаратом та ферментером, де ступінь очищення становить - E = 99,99% [16].

2.2.2 Обґрунтування вибору мийних та дезінфікуючих засобів

Мийні засоби – це окремі хімічні сполуки або складні суміші, компоненти яких взаємодіють для посилення ефективності, включаючи поверхнево-активні речовини та елементи для зниження піноутворення. Як правило, для очищення перевагу віддають складним сумішам, які забезпечують ширший спектр дії та краще видаляють забруднення з різних поверхонь. Залежно від типу забруднення використовуються лужні або кислотні засоби: білки та жири гідролізуються і усуваються під дією лугів, тоді як мінеральні забруднення розчиняються і видаляються кислотами [17].

До складу лужних мийних засобів, які можуть застосовуватися як автономно, так і в комбінації з іншими хімічними компонентами, найчастіше входять гідроксид натрію та його сполуки. Серед них виокремлюють карбонат натрію, силікат і тетрасилікат натрію, що входять до складу багатьох мийних препаратів. Крім того, широко використовуються фосфати натрію, включаючи гексаметафосфат і триполіфосфат натрію. Ці сполуки характеризуються специфічними поверхнево-активними властивостями, зокрема здатністю пом'якшувати воду, завдяки чому вони часто стають невід'ємними компонентами сучасних синтетичних мийних засобів [17].

Миття апаратури виробничого процесу, в тому числі виробничого ферментера, буде проводитися за допомогою CIP – мийки. CIP (clean-in-place) метод дозволяє проводити миття внутрішньої поверхні труб, ємностей, технологічного обладнання фільтрів і зв′язаної з ними арматури без розбору. CIP – мийка дає можливість контролювати температуру, тиск, об′єм води, концентрацію миючого засобу, тривалість мийки, швидкість потоку [18].

Миття обладнання, інвентарю та комунікацій будемо проводити з кальцинованою содою 2%, розчином перекису водню 2 − 3 %. Але варто зазначити, що перекис водню відноситься до бисоконебезпечних речовин (2 клас небезпеки), оскільки він подразнює шкіру, слизову оболонку очей та верхніх дихальних шляхів [19].

Кальцинована сода в безводному стані представляє собою безбарвний кристалічний порошок. Важливою перевагою кальцинованої соди є пом′якшення води та зниження жорсткості, входить до складу багатьох миючих засобів. Добре знежирює поверхні, гігроскопічна. Перевагами використання кальцинованої соди є: добра розчинність у воді, отримання ефекту у невеликих концентраціях, короткий проміжок часу для отримання результатів, забезпечення знезараження навіть при наявності органічних речовин, стійкість зберігається при тривалому зберіганні, не надмірно шкідливий для людей та тварин, дешевизна та зручність при зберіганні та транспортуванні [20].

Дезінфекція приміщень і поверхонь обладнання призводить, як правило, до зниження мікроорганізмів на 40–60 % від їх початкового вмісту.

При виборі дезінфікуючої речовини необхідно враховувати не тільки її бактерицидні властивості і спектр дії, але й можливу токсичність для людини [5].

«Неохлор» – концентрований хлоративний засіб, багатокомпонентний препарат, для дезінфекції та санітарної обробки, що містить також миючий засіб, ароматизатор, інгібітор корозії і стабілізатор вмісту активного хлору.

«Біомой» – багатокомпонентний, поліфункціональний, біоактивний миючий засіб з дезінфікуючим ефектом. Використовується для обробки обладнання зовні [17, 21].

Отже, для миття та дезінфекції примщень. А саме підлоги, стін, вікон та дверей ми будемо застосовувати «Неохлор» та «Біомой».

Для дезіфекції рук персоналу обрано 70% розчини етилового та ізопропілового спирту.

2.3. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу, підготовка поживного середовища та параметри стерилізації

2.3.1. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу

За один виробничий цикл з врахуванням втрати в результаті краплевиносу, що становлять 10% отримують Vкр/ц = 4101 л культуральної рідини.

Виробничий біосинтез здійснюють у ферментері з робочим об’ємом Vроб.1 = 4101 л. При вибраному коефіцієнті заповнення Кзап = 0,65 можливий геометричний об’єм ферментера становить:

$$Vг=4101/0,65=6\ 309\ л$$

Таким чином геометричний об’єм ферментера становитиме 6300 л.

Перевіримо раніше прийнятий коефіцієнт заповнення 0,65:

$$Кзап.1=(Vроб.)/Vсф=4101/6300=0,65$$

Перевірний коефіцієнт знаходиться в межах 0,65.

Розрахуємо кількість поживного середовища з урахуванням 10% для культуральної рідини 44101л:

$$Vпс=(Vроб.1)/(1+Хф)=(4101)/(1+0,1)=3728,2 л$$

Де Хф – відсоток посівного матеріалу для ферментера. Таким чином кількість посівного матеріалу для ферментера становить:

$$Vпм1 = Vроб.1–Vпс1= 4101–3728,2=372,8 л$$

2.3.2. Розрахунок кількості посівного матеріалу для вирощування культури в інокуляторі 630 л

Для отримання 372,8 л посівного матеріалу об'єм поживного середовища та посівного матеріалу в біореакторі з урахуванням 10% втрат в результаті краплевиносу повинен становити:

$$Vроб2=Vпм1/(1-Еф) = 372,8/ (1-0,1) = 414,2 л$$

Розрахуємо загальний об'єм інокулятора:

$$Vін1= Vроб2/0,65=414,2/0,65= 637,2л ≈ 630л$$

де 0,65 – коефіцієнт заповнення ферментера.

Для одержання посівного матеріалу кількість поживного середовища для інокулятора становитеме:

$$Vпс=Vроб2/(1+0,1)=414,2 л/ (1+0,1)= 376,5 л$$

де 0,1 – кількість посівного матеріалу від загальної кількості культуральної рідини.

Розрахуємо кількість посівного матеріалу:

$$Vпм2= Vроб2 – Vпс= 414,2 – 376,5 = 37,7 л$$

2.3.3. Розрахунок кількості посівного матеріалу для вирощування культури в інокуляторі 50 л

Для отримання 37,7 л посівного матеріалу об'єм поживного середовища та посівного матеріалу в біореакторі з урахуванням 10% втрат в результаті краплевиносу повинен становити:

$$V_{роб3}=V_{пм2}/(1-Еф) = 37,7/ (1-0,1) = 41,9 \text{ л}$$

Розрахуємо загальний об’єм інокулятора:

$$V_{ін2}= V_{роб3}/0,7=41,9/0,7= 59,85\text{л} \approx 63 \text{ л}$$

Де 0,7 – коефіцієнт заповнення ферментера.

Для одержання посівного матеріалу кількість поживного середовища для інокулятора становитиме:

$$V_{пс}=V_{роб3}/(1+0,1)=41,9 \text{ л}/ (1+0,1)= 38,1 \text{ л}$$

де 0,1 – кількість посівного матеріалу від загальної кількості культуральної рідини.

Розрахуємо кількість посівного матеріалу:

$$V_{пм3}= V_{роб3} – V_{пс}=41,9\text{л}− 38,1 \text{ л}= 3,8 \text{ л}$$

2.3.4. Розрахунок кількості посівного матеріалу для вирощування культури в інокуляторі 10 л

Для отримання 3,8 л посівного матеріалу об’єм поживного середовища та посівного матеріалу в біореакторі з урахуванням 10% втрат в результаті краплевиносу повинен становити:

$$V_{роб4}=V_{пм3}/(1-Еф) = 3,8/ (1-0,1) = 4,2 \text{ л}$$

Розрахуємо загальний об’єм інокулятора:

$$V_{ін3}= V_{роб4}/0,6=4,2/0,6= 7 \text{ л} = 10 \text{ л}.$$

де 0,6 – коефіцієнт заповнення інокулятора.

Оскільки найбільше прийнятним є інокулятор об’ємом 10л, то перерахуємо коефіцієнт заповнення.

$$Кз= V_{роб4}/ V_{ін3}=4,2/10 = 0,42$$

Для одержання посівного матеріалу кількість поживного середовища для інокулятора становитиме:

$$V_{пс}=V_{роб4}/(1+0,1)=4,2 \text{ л}/ (1+0,1)= 3,8 \text{ л}$$

де 0,1 – кількість посівного матеріалу від загальної кількості культуральної

рідини.

Розрахуємо кількість посівного матеріалу:

$$Vпс4= Vроб4 – Vпс=4,2 л– 3,8 л= 0,4 л$$

2.3.5. Розрахунок кількості посівного матеріалу для вирощування культури в колбах на качалці

Для одержання 400 мл посівного матеріалу використовують качалочні колби об'ємом 300 мл та коефіцієнтом заповнення Кзк = 0,4. Обраний нами продуцент є аеробом, швидкість обертань становить 150-200об/хв, тому ми обираємо коефіцієнт заповнення колби 0,4 (40%).

Розрахуємо кількість колб:

$$Nколб=400/(300×0,4)=3,3 шт.$$

Отже, для одержання посівного матеріалу необхідно 3 качалочних колб. Кожну колбу ми будемо засівати 1 пробіркою посівного матеріалу. Тому нам потрібно для засіву 3 колб приготувати 3 пробірки з робочою культурою мікроміцета. Таким чином, процес одержання посівного матеріалу для забезпечення виробничого біосинтезу глюконової кислоти у ферментері об'ємом 7 м³ з коефіцієнтом заповнення 0,4 буде проходити у чотири етапи.

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

Склад поживного середовища для вирощування *Aspergillusniger*CCM8004 складається з таких компонентів та концентрацією г/л:

Глюкоза- 150;

$(NH_4)_2SO_4$ – 0,59;

KCl – 0,25;

KH_2PO_4 – 0,25;

$MgSO_4x7H_2O$ – 0,25;

$Ca(NO_3)_2x4H2O$ – 1,0;

Кукурудзяний екстракт – 1,5 (мл / л) [1]

Для запобігання негативним хімічним взаємодіям між компонентами (карамелізація вуглеводів, руйнування вітамінів, утворення нерозчинних осадів) доцільно розділити середовище для стерилізації на три композиції (табл. 2.4).

Таблиця 2.4

Поживне середовище поділена композиції та параметри стерилізації

Компоненти поживного середовища	Композиція	Параметри стерилізації
Глюкоза	А	112°С, 0,05 МПа, 20-30 хв.
Кукурудзяний екстракт		
KH_2PO_4	Б	131°С, тиску 0,15МПа, 40 хв.
$(NH_4)_2SO_4$		
KCl		
$MgSO_4x7H_2O$	В	131°С, тиску 0,15МПа, 40 хв.
$Ca(NO_3)_2x4H_2O$		

Композиція А складається з термолабільних компонентів, таких як глюкоза і кукурудзяний екстракт. Глюкозу стерилізують у щадному режимі, щоб уникнути карамелізації та утворення токсичних речовин. Кукурудзяний екстракт, який багатий на вітаміни групи В, зокрема біотин (150–200 мкг/100 г), а також біостимулятори, також вимагає дбайливої стерилізації.

Композиція Б містить основний набір мінеральних солей, які включають джерела азоту, калію, фосфору. Процес її стерилізації проводиться за жорсткішим режимом, що забезпечує повне знищення спор бактерій.

Композиція В представляє собою розчин кальцію нітрату та $MgSO_4x7H_2O$, який виділяють окремо для мінімізації ризику утворення нерозчинних фосфатів кальцію при високій температурі.

2.4.1. Розрахунок кількості поживного середовища для виробничого ферментера об’ємом 7 м³

У склад поживного середовища входить глюкоза із загальною концентрацією 150 г/л. Початкова концентрація джерела вуглецю у середовищі

не повинна перевищувати 40-60 г/л. Отже, розчин глюкози буде вноситися у середовище порціями. Тому ми будемо готувати окремо підживлюючий розчин глюкози.

Розрахунки кількості компонентів середовища для ферментера об'ємом 7 м³представлені у табл.2.5. Об'єм поживного середовища з урахуванням 10% посівного матеріалу становить 3728,2 л.

Таблиця 2.5

Розрахунок кількості компонентів поживного середовища для ферментера об'ємом 7 м³

Компоненти поживного середовища	Кількість г/л	Кількість кг на 3728,2 л	Композиція	Об'єм композиції, л
Глюкоза	60	223,7	А	1728,2
Кукурудзяний екстракт	1,5мл/л	5,6л		
Вода	1499,4 л			
KH_2PO_4	0,25	0,93	Б	500
$(NH_4)_2SO_4$	0,59	2,2		
KCl	0,25	0,93		
Вода	495,94 л			
$MgSO_4x7H_2O$	0,25	0,93	В	500
$Ca(NO_3)_2x4H_2O$	1	3,73		
Вода	495,34 л			
Глюкоза	90	335,5	Підживлюючий розчин	1000
Вода	664,5л			
Разом:			3728,2 л	

Параметри стерилізації композицій вказані в *п. 2.4* (табл 2.4).

Стерилізацію композиції А варто проводити в самому ферментері 7 м^3 через її великий об'єм. На стадії проведення виробничого культивування передбачається встановлення збірників об'єм 1м³ для приготування композицій Б та В. Також для даної стадії необхідно передбачити приготування та стерилізація підживлюючого розчину глюкози в реакторі на 2000 л. Підживлюючий розчин вноситься двічі під час ферментації.

2.4.2. Розрахунок кількості поживного середовища для інокулятора об’ємом 630 л

Розрахована кількість компонентів середовища для інокулятора об’ємом 630 л представлена табл. 2.6.

Об’єм поживного середовища з урахуванням 10% посівного матеріалу становить376,5 л.

Таблиця 2.6

Розрахунок кількості компонентів поживного середовища для інокулятора об’ємом 630 л

Компоненти поживного середовища	Кількість г/л	Кількість кг на 376,5 л	Композиція	Об’єм композиції, л
Глюкоза	60	22,59	А	276,5
Кукурудзяний екстракт	1,5мл/л	0,56 л		
Вода	253,35 л			
KH_2PO_4	0,25	0,094	Б	50
$(NH_4)_2SO_4$	0,59	0,222		
KCl	0,25	0,094		
Вода	49,59 л			
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,25	0,094	В	50
$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	1	0,376		
Вода	49,53 л			
Разом:			376,5л	

Параметри стерилізації композицій вказані в *п. 2.4* (табл. 2.4).

Композицію А готують та стерилізують безпосередньо в інокуляторі, а композиції Б та В готують та стерилізують окремо в реакторах-змішувачах об’ємом 100 л.

2.4.3. Розрахунок кількості поживного середовища для інокулятора об’ємом 63 л

Розрахована кількість компонентів середовища для інокулятора об’ємом

63 л представлена в табл. 2.7.

Об’єм поживного середовища з урахуванням 10% посівного матеріалу становить 38,1 л.

Таблиця 2.7

Розрахунок кількості компонентів поживного середовища для інокулятора об’ємом 63 л

Компоненти поживного середовища	Кількість г/л	Кількість грам на 38,1 л	Композиція	Об’єм композиції, л
Глюкоза	60	22590	А	35,1
Кукурудзяний екстракт	1,5мл/л	564,8 мл		
Вода	11,9452 л			
KH_2PO_4	0,25	94,1	Б	1,5
$(NH_4)_2SO_4$	0,59	222,1		
KCl	0,25	94,1		
Вода	1,0897л			
$MgSO_4x7H_2O$	0,25	94,1	В	1,5
$Ca(NO_3)_2x4H_2O$	1	376,5		
Вода	1,0294л			
Разом:			38,1 л	

Параметри стерилізації композицій вказані в *п. 2.4* (табл. 2.4).

Композицію А готують та стерилізують в інокуляторі 63 л, а композиції Б та В готують окремо в колбах на 3л та автоклавують.

2.4.4. Розрахунок кількості поживного середовища для інокулятора об’ємом 10 л

Розрахована кількість компонентів середовища для інокуляторі на 10 л представлена в табл. 2.8.

Об’єм поживного середовища з урахуванням 10% посівного матеріалу становить 3,8 л.

Таблиця 2.8

Розрахунок кількості компонентів поживного середовища для інокулятора об'ємом 10 л

Компоненти поживного середовища	Кількість г/л	Кількість грам на 3,8 л	Композиція	Об'єм композиції, л
Глюкоза	60	228	А	7,6
Кукурудзяний екстракт	1,5мл/л	5,7 мл		
Вода	7,3663 л			
KH_2PO_4	0,25	0,95	Б	0,25
$(NH_4)_2SO_4$	0,59	2,24		
KCl	0,25	0,95		
Вода	245,86 мл			
$MgSO_4x7H_2O$	0,25	0,95	В	0,25
$Ca(NO_3)_2x4H_2O$	1	3,8		
Вода	245,25 мл			
Разом:			3,8 л	

Параметри стерилізації композицій вказані в *п. 2.4* (табл. 2.4).

Композиції Б та В готуються в колбах місткістю 500мл та атоклавують. Композиція А готується та стерилізується в посівному апараті.

2.4.5. Розрахунок кількості посівного матеріалу для вирощування культури в колбах на качалці

Розрахована кількість компонентів середовища для вирощування культури в колбах на качалках представлена в табл. 2.9.

Об'єм поживного середовища становить 400 мл.

Для отримання посівного матеріалу ми будемо вносити глюкозу в концентрації 40 г/л, так як нам не важливе отримання цільового продукту. Тому для нарощування біомаси будемо вносити в глюкозу в концентрації 40г/л

Таблиця 2.9

Розрахунок кількості компонентів поживного середовища для вирощування в колбах на качалках

Компоненти поживного середовища	Кількість г/л	Кількість грам на 400 мл	Композиція	Об’єм композиції, мл
Глюкоза	40	16	А	200
Кукурудзяний екстракт	1,5мл/л	0,6 мл		
Вода	183,4мл			
KH_2PO_4	0,25	0,1	Б	100
$(NH_4)_2SO_4$	0,59	0,24		
KCl	0,25	0,1		
Вода	99,56мл			
$MgSO_4x7H_2O$	0,25	0,1	В	100
$Ca(NO_3)_2x4H_2O$	1	0,4		
Вода	99,5мл			
Разом:			400 мл	

Композиція А готується та стерилізується в колбі місткістю 0,5 л. Композиції Б та В готуються та стерилізуються в колбах об’ємом 250 мл.

Параметри стерилізації композицій вказані в *п. 2.4* (табл. 2.4). Далі після стерилізації композиції Б та В додають до композиції А та розділяють на 3 колби об’ємом 300 мл.

Висновки до розділу 2.

На основі проведеного порівняльного аналізу продуцентів було встановлено, що штам *Aspergillus niger* CCM8004 відрізняється найвищою продуктивністю, забезпечуючи отримання до 150 г/л глюконової кислоти за 54 години культивування. Обґрунтовано використання глибинного періодичного способу культивування, а також підібрано ферментер об'ємом 7 м³, оснащений системами аерації, перемішування та автоматичного контролю параметрів технологічного процесу. Розроблена схема підготовки аераційного повітря, здійснено вибір належних мийних і дезінфікуючих засобів, визначено кількість етапів підготовки посівного матеріалу та оптимальні параметри стерилізації поживних середовищ.

РОЗДІЛ 3
ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО АГЕНТА

3.1. Таксономічний статус *Aspergillus niger* CCM8004 [22]

Домен: *Eukaryota*

Царство: *Fungi*

Відділ: *Ascomycota*

Клас: *Eurotiomycetes*

Порядок: *Eurotiales*

Родина: *Aspergillaceae*

Рід: *Aspergillus*

Вид: *Aspergillus niger*

Штам: CCM8004

3.2. Морфолого-культуральні ознаки та фізіолого-культуральні ознаки продуцента

Aspergillus niger, один із найпоширеніших і важливих видів грибів, повсюдно поширений у різних середовищах. Даний мікроорганізм відноситься до роду *Aspergillus*, що належить до сімейства Aspergillaceae, який на сьогоднішній день включає 492 види, зареєстровані в базі даних Національного центру біотехнологічної інформації (NCBI).

A. niger − це нитчастий гриб, що росте аеробно на органічних речовинах. Завдяки високій здатності до адаптації та живучості *A. niger* повсюдно поширений у природі, у тому числі в наземному ґрунті, океані, Арктиці. Він також займає широкий спектр середовищ існування серед рослин і тварин, таких як трави, чагарники, дерева, лишайників, креветок та морських губок.

Штам *A. niger* добре росте в різних середовищах з різними джерелами вуглецю, включаючи глюкозу, висівки, мальтозу, ксилан, ксилозу, сорбіт і лактозу. Однак на його метаболізм істотно впливають умови культивування, такі як склад середовища та режим бродіння [23].

A. niger здатний рости в широкому діапазоні температур 6–47°C з відносно високою температурою. Оптимальна температура 35-37°C. Межа активності води для зростання становить 0,88, що є відносно високим показником у порівнянні із іншими видами *Aspergillus*. *A. niger* здатний рости в дуже широкому діапазоні pH: 1,4–9,8. Ці здібності та рясне утворення конідіоспор, які поширюються повітрям, забезпечують повсюдне поширення видів, з більшою частотою в теплих і вологих місцях [24]

Штами цього гриба використовують для виробництва лимонної кислоти, яблучної кислоти, глюконової кислоти та ітаконової кислоти з сахаристих речовин та вітаміну B2 (рибофлавіну) [25].

У грибів виду *A. niger* розвинений багатоклітинний (септований) міцелій та одноклітинні, кулясті, нерозгалужені конідієносці. На них розташовуються короткі, кеглеподібні стеригми, від кожної з яких відходять ланцюжки конідій. Голівка конідієносця схожа на дозрілу кульбабу. Самі конідії − це нерухомі спори безстатевого розмноження, чорні та мають круглу форму (рис. 3).

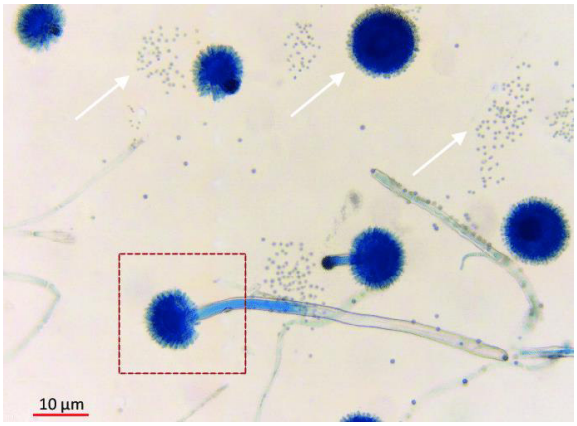

Рис. 3.1 – Зображення *Aspergillus niger* під світловим мікроскопом, забарвленого лактофеноловим бавовняним синім. Стрілки позначають шорсткі конідії. У рамці виділено конідіофор з великим везикулою, а також фіаліди та метули, що покривають всю поверхню [26].

Aspergillus niger розмножується безстатевим шляхом, утворюючи спеціальні клітини − конідії або мітоспори. Від звичайних спор конідії *A. niger* відрізняються тим, що вони формуються не всередині спорангію, а зовні, на поверхні міцелію, на особливих виростах − конідієносцях. Інша назва конідій − мітоспори − вказує на те, що ці клітини утворюються шляхом мітозу, тоді як звичайні спори утворюються через мейоз. Конідії, як і інші спори, потрапляючи на живильне середовище при оптимальній температурі та кислотності, проростають і формують новий міцелій [27, 28].

Гриб *A. niger* добре росте на щільних середовищах у чашках Петрі, зокрема на м'ясо-пептонному агарі (МПА), Саборо-Декстрозному агарі та сусло-агарі. Культуральні ознаки цього продуцента глюконової кислоти включають наступні:

• край колонії – ворсистий;

• поверхня – ворсиста, шорстка;

• розмір колоній *A. niger* варіюється від кількох міліметрів до декількох десятків сантиметрів у діаметрі;

• колонії *A. niger* мають непрозору структуру;

• характерний колір колоній − чорний, завдяки утворенню конідій цього кольору;

• структура колонії − неоднорідна та волокниста, гриб проникає в агар, але легко знімається мікробіологічною голкою;

• консистенція колоній − суха та пухка [24, 27, 28].

Висновок до розділу 3.

Було наведено характеристику біологічного агента *Aspergillus niger* CCM8004 як продуцента глюконової кислоти. Проаналізовано його морфологічні, фізіолого-біохімічні та технологічно важливі властивості. Встановлено, що даний штам здатний ефективно окиснювати глюкозу до глюконової кислоти в аеробних умовах та забезпечувати високий вихід цільового продукту. Визначено оптимальні умови культивування, які забезпечують максимальну продуктивність процесу біосинтезу.

РОЗДІЛ 4
ОБҐРУНТУВАННЯ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

Технологічна схема біосинтезу глюконової кислоти за допомогою продуцента *Aspergillus niger* CCM8004 включає в себе допоміжні роботи (ДР): санітарна підготовка виробництва, підготовка аераційного повітря, приготування титрувальних розчинів, приготування та стерилізація поживних середовищ та приготування та стерилізація підживлюючого розчину глюкози; технологічний процес (ТП):підготовка посівного матеріалу та виробничого біосинтезу; знешкодження відходів (ЗВ 8.1. ЗВ 8.2., ЗВ 8.3.).

ДР.1. Санітарна підготовка виробництва

ДР 1.1. Підготовка персоналу до виробництва

До виробництва допускаються виключно працівники, які пройшли відповідне навчання, отримали інструктажі з питань охорони праці, техніки безпеки та пожежної безпеки, а також ознайомлені з вимогами виробничої санітарії й принципами належної виробничої практики. Працівники, які отримали допуск до роботи отримують комплект спецодягу, до якого входять халат, змінне взуття, шапочки, рукавички (від ДР 1.1.3.). Входячи у виробничі приміщення працівники зобов’язані ретельно очистити руки та обробити руки дезінфікуючими засобами (від ДР 1.2.3.).

ДР 1.1.1. Навчання та інструктаж персоналу

Перед допуском до виконання виробничих або службових обов’язків усі працівники повинні пройти вступний інструктаж з охорони праці, техніки безпеки та пожежної безпеки. Працівники, які не пройшли відповідне навчання та перевірку знань, до роботи не допускаються. Персонал, діяльність якого пов’язана з роботою у чистих приміщеннях, додатково проходить спеціалізовану підготовку щодо дотримання вимог асептики та роботи в контрольованому виробничому середовищі.

У процесі навчання особлива увага приділяється підтриманню встановлених рівнів чистоти та стерильності, а також правильному використанню, експлуатації й технічному обслуговуванню технологічного обладнання.

З метою забезпечення безперервності та ефективності виробничих процесів на підприємстві регулярно проводяться навчальні та інформаційні заходи, спрямовані на поглиблення знань персоналу щодо системи забезпечення якості та дотримання вимог належної виробничої практики.

Проведення інструктажів, навчання та підвищення кваліфікації персоналу здійснюється щорічно відповідно до функціональних обов'язків працівників та специфіки виконуваних робіт.

ДР.1.1.2. Медичне обстеження персоналу

Усі працівники зобов'язані пройти обов'язковий медичний огляд перед офіційним працевлаштуванням. У подальшому передбачено проведення регулярних медичних обстежень двічі на рік. Працівники, у яких виявлено відкриті рани або ознаки захворювань, усуваються від виконання трудової діяльності до повного одужання.

ДР 1.1.3. Підготовка та стерилізація спецодягу

Усі працівники, які мають доступ до виробничих зон, забезпечуються спеціальним одягом. Цей одяг повинен бути стерильним і включає халат, взуття, медичну маску, рукавички, бахіли та шапочку. Медичні маски, бахіли, рукавички та шапочки використовуються одноразово, щоб уникнути ризику контамінації.

Спецодяг, а саме халат та взуття, проходить перевірку раз на 2 місяці. Після чого у разі виявлення пошкоджень одягу його відправляють на етап знешкодження твердих відходів (ЗВ 8.2.).

Забруднений одяг перуть при температурі 60 – 70°С протягом 1 години з додаванням прального порошку та водопровідної води. Відпрацьований розчин після прання надходить на етап знешкодження рідких відходів (ЗВ 8.1).

Після прання мокрий одяг піддається сушінню за температурою 70-80°С

протягом 40 – 50 хвилин. Останнім етапом підготовки одягу є прасування. Після прасування одяг пакується та відправляється в робочі зони для персоналу (ДР 1.1.).

Чистий спецодяг зберігають у спеціально відведеному приміщенні протягом шести місяців. Якщо за цей період він не використовується, одяг проходить повторну підготовку та стерилізацію.

ДР 1.2. Підготовка мийних та дезінфікуючих засобів

ДР.1.2.1. Підготовка мийно-дезінфікуючих засобів для приміщень

Для миття та дезінфекції приміщення застосовують розчини Неохлор та Біомой. Для щоденного прибирання готують розчини в концентраціях: Неохлор – 0,1% (1 мл концентрату Неохлора 999 мл водопровідної води), Біомой− 0,15% (1,5 г порошку Біомой на 998,5 мл водопровідної води). Для генирального прибирання готують розчинини в концентраціях: Неохлор – 0,3% (3 мл концентрату Неохлора 997 мл водопровідної води), Біомой− 0,3% (3 г порошку Біомой на 997 мл водопровідної води). Приготовані розчини відповідно до концентраій які потрібні надходять на щоденне прибирання (ДР 1.3.1.) та генеральне прибирання (ДР 1.3.2.) приміщень. Розчини використовують почергово, змінючи кожні 3 місяці. Ємності від використаних розчинів надходять на етап знешкодження твердих відходів (ЗВ 8.2.), а відпрацьовані розчини надходять до знешкодження рідких відходів (ЗВ 8.1.).

ДР.1.2.2. Підготовка мийних засобів для обладнання

Для миття ферментера мийні розчини готуються в установці CIP-мийки. Для інших об’єктів мийні розчини будуть готуватися в ємностях із нержавіючої сталі. Миття здійснюється розчином кальцинованої соди (карбонат натрію Na_2CO_3) концентрацією 2%. Для отримання 1 л 2% мийного розчину потрібно змішати 20 г суху кальциновану соду та 980 мл водопровідної води. Як додатковий мийний засіб будемо застосовувати 3% розчин перикису водню. Для приготування 1 л 3% мийного розчину перекису водню змішують 50% розчин перекису воднню та воду: 60мл перикису водню (50%) та 940мл водопровідної води.

Готові розчини надходять на етап мийки обладнання (ДР 1.4.1.). Використанні ємності надходять на етап знешкодження твердих відходів (ЗВ 8.2.) та використані розчини надходять до знешкодження рідких відходів (ЗВ 8.1.).

ДР.1.2.3. Підготовка дезінфікуючих засобів для працівників

Для дезінфекції рук персоналу застосовують 70% етиловий та ізопропіловий спирти. Для приготування 1л 70% розчину етилового спирту змішують 729 мл 96% етанолу та 271 мл водопровідної води. Для приготування 1л 70% розчину ізопропілового спирту змішують 707мл 99% ізопропанолу та 293мл водопровідної води. Готові розчини передаються персоналу для дезінфекції рук (ДР 1.1). Розчини використовують почергово, змінюючи кожні 3 місяці. Використані ємності для приготування розчинів надходять на етап знешкодження твердих відходів (ЗВ 8.2.).

ДР 1.3. Підготовка виробничих приміщень

ДР 1.3.1. Щоденне прибирання

Щоденне прибирання здійснюється 1 раз на зміну. Вологе прибирання приміщень виробничих проводиться мийно-дезинфікуючими розчинами Неохлор – 0,1% або Біомой− 0,15% (від ДР1.2.1.). Під час прибирання ретельно обробляють стіни, підлогу, двері. Розчини використовують почергово, змінюючи кожні 3 місяці. Тривалість прибирання 30-40хв. Відпрацьовані розчини надходять до знешкодження рідких відходів (ЗВ 8.1.).

ДР.1.3.2. Генеральне прибирання

Планове генеральне прибирання проводять 1 раз на місяць. Позапланове − може відбутися на вимогу мікробіолога через випадок виявлення мікробної контамінації. За генерального прибирання використовують робочі розчини Неохлор – 0,3% та Біомой − 0,3% (від ДР 1.2.1.). Під час прибирання ретельно миють всі поверхні приміщення (підлогу, стіни, стелю та вікна) та поверхні обладнань. Розчини використовують почергово, змінюючи кожні 3 місяці.

Генеральне прибирання проводять протягом 1−1,5 год. Відпрацьовані розчини надходять до знешкодження рідких відходів (ЗВ 8.1.).

ДР.1.4. Підготовка ферментатора

ДР.1.4.1. Огляд, миття та ополіскування апарату

Перед початком миття ферментера та пов'язаних з ним комунікацій обов'язково проводиться інспекція для виявлення можливих дефектів, таких як пошкодження, вм'ятини чи заглибини. Подібні нерівності поверхні можуть утримувати залишки технологічних середовищ або біомаси, що значно підвищує ризик мікробіологічного забруднення та перехресної контамінації під час виробництва наступних серій продукту.

Миття ферментера здійснюється 2% розчином кальцинованої соди за допомогою CIP-мийки. В станцію CIP мийки завантажується робочий розчин кальцинованої соди (від ДР 1.2.2.). Процес миття CIP-мийкою має три стадії, тривалістю приблизно 1 годину 20 хвилин:

1) ополіскується водою апаратура. Даний процес проводиться за температури води 20°С та триває 10 хвилин;

2) циркулюється миючий розчину (температури 75±5°С), коефіцієнт заповнення апаратури становить 20%, тривалість стадії 30 хвилин;

3) поверхня апарату ополіскується водою питною (температура 45±5°С) щоб забезпечити видалення залишків миючого засобу. Тривалість процесу 40 хвилин. Відсутність залишків миючого засобу контролюється по значенню pH промивних вод. Як додатковий мийний засіб для комунікацій та інокуляторів будемо застосовувати 3% розчин перикису водню (від ДР 1.2.2.).

Відпрацьовані розчини надходять до знешкодження рідких відходів (ЗВ 8.1.).

ДР.1.4.2. Перевірка на герметичність

Перевірка герметичності здійснюється шляхом створення у системі надлишкового тиску повітря в межах 0,2–0,3 МПа (від ДР 2.7.) на період від 30 до 60 хвилин. Перед початком тестування обов'язково потрібно закрити всю запірну арматуру. Після цього перекривається вентиль подачі повітря, і

проводиться фіксація показань манометра. Апарат вважається герметичним, якщо за вказаний період часу падіння тиску не перевищує 0,01 МПа.

Відпрацьоване повітря передається на знешкодження газових відходів (до ЗВ 8.3.).

ДР 1.4.3. Стерилізація обладнання

Процес стерилізації ферментера складається з трьох етапів. Спершу в сорочку апарата подається глуха пара, яка прогріває його до температури 80-90 °С. На наступній стадії гостра пара подається безпосередньо в апарат через нижній спуск, при цьому вентиль виходу відпрацьованого повітря попередньо відкривають, щоб забезпечити видалення надлишкової пари. Коли температура всередині апарата досягає значень стерилізації 130–135 °С, закривають усю запірну арматуру, окрім парової, та витримують апарат протягом однієї години. На фінальній стадії процесу, при охолодженні, вся запірна арматура для подачі пари закривається, а в сорочку апарата подається холодна вода. Охолодження триває до зниження температури до 30−40 °С, при цьому підтримується надлишковий тиск 0,003–0,005 МПа.

Після стерилізації утворюється конденсат, який надалі подається до знешкодження рідких відходів (ЗВ 8.1.)

ДР 2. Підготовка аераційного повітря

ДР 2.1. Збір атмосферного повітря

Збір атмосферного повітря здійснюється на висоті 20 – 30м. Забір повітря здійснюється вертикальною трубою з повітрозбірником.

ДР 2.2. Очищення повітря від пилу і механічних часток

Попередня очистка повітря відбувається за допомогою фільтра грубої очистки, який забезпечує приблизно 80% ефективності очищення. Під час проходження через цей фільтр пилові частинки, механічні домішки затримуються, а загальна кількість мікрофлори-контамінантів зменшується.

ДР 2.3. Компресування повітря

Процес компресування повітря відбувається на компресорі при надлишковому тиску 0,35 – 0,5 МПа та температурі 120 – 150°С.

ДР 2.4. Охолодження стиснутого повітря та видалення вологи

Повітря охолоджується до температури 25–40°С у теплообміннику-охолоджувачі. У процесі охолодження видаляється 50–70% початкової вологи, яка потім відокремлюється за допомогою волого-відділювачів. Після цього оброблене повітря направляється до ресивера для акумуляції та стабілізації. Ресивер обов'язково повинен бути обладнаний відвідним каналом для конденсату.

Зібраний конденсат можна надалі використовувати на різних етапах виробничого біосинтезу в якості дистильованої води.

ДР 2.5. Підігрів повітря

Повітря підігрівають до температури 40−50°С теплообмінником-нагрівачем. Нагрівають повітря задля забезпечення надійної та стабільної роботи головного та індивідуального повітряних фільтрів.

ДР 2.6. Очищення повітря в головному фільтрі

Попереднє очищення повітря від мікроорганізмів здійснюється за допомогою головного фільтра, забезпечуючи ступінь очищення на рівні 95%. Фільтрувальний матеріал зазвичай замінюють двічі на рік. У випадках забруднення, зволоження або інфікування фільтруючого матеріалу проводиться його позапланова заміна.

ДР 2.7. Стерилізація повітря у індивідуальному фільтрі

Повітря від головних фільтрів через трубопроводи подається безпосередньо до індивідуального фільтра, встановленого безпосередньо перед ферментером, посівним апаратом та інокулятором (ТП 8.1., ТП 5.7., ТП 5.6., ТП 5.5.). При цьому повітря очищають до ступеня очищення 99,999%.

Стерильне повітря подається на ДР 1.4.2. для перевірки обладнання на герметичність.

ДР.3. Приготування титрувальних розчинів

ДР 3.1. Приготування 6% розчину HCl для всіх етапів виробничого біосинтезу

Для всього циклу біосинтезу глюконової кислоти ми будемо

використовувати 6% розчин соляної кислоти.

Для ферментера об’ємом 7 м³ потрібно приблизно 8,202 л титруючого агенту. Для приготування розчину потрібно у реакторі-змішувачі на 10л змішати 1,49 л 33% розчину соляної кислоти та 6,712 л дистильованої води.

Для посівного апарата об’ємом 700 л потрібно приблизно 0,746 л титруючого агенту. Для приготування розчину потрібно у змішати у ємності на 1 л 135,6 мл 33% розчину соляної кислоти та 610,4 мл дистильованої води.

Для інокулятора об’ємом 70 л потрібно приблизно 75,4 мл титруючого агенту. Для приготування розчину потрібно у змішати у колбі на 100 мл 13,71 мл 33% розчину соляної кислоти та 61,69 мл дистильованої води.

Для інокулятора об’ємом 7 л потрібно приблизно 7,6 мл титруючого агенту. Для приготування розчину потрібно у змішати у колбі на 15 мл 1,382 мл 33% розчину соляної кислоти та 6,218 мл дистильованої води.

Готові розчини подаються до ферментера, посівного апарата, інокуляторів (ТП 8.1., ТП 5.7., ТП 5.6., ТП 5.5.) через мембранні фільтри 0,22мкм. Готові розчини зберігаються потягом 6 діб. Ємності від використаних розчинів надходять до знешкодження твердих відходів (ЗВ 8.2.).

ДР 3.2. Приготування 6% розчину NaOH для всіх етапів виробничого біосинтезу

Для всього циклу біосинтезу глюконової кислоти ми будемо використовувати 6% розчин гідроксиду натрію.

Для ферментера об’ємом 7 м³ потрібно приблизно 8,202 л титруючого агенту. Для приготування розчину потрібно у реакторі-змішувачі на 10л змішати 0,492 г порошку гідроксиду натрію та 7,710 л дистильованої води.

Для посівного апарата об’ємом 700 л потрібно приблизно 0,746 л титруючого агенту. Для приготування розчину потрібно у змішати у ємності на 1 л 44,76 г порошку гідроксиду натрію та 701,24 мл дистильованої води.

Для інокулятора об’ємом 70 л потрібно приблизно 75,4 мл титруючого агенту. Для приготування розчину потрібно у змішати у колбі на 100 мл 4,524 г порошку гідроксиду натрію та 70,876 мл дистильованої води.

Для інокулятора об’ємом 7 л потрібно приблизно 7,6 мл титруючого агенту. Для приготування розчину потрібно у змішати у колбі на 15 мл 0,456 г порошку гідроксиду натрію та 7,144 мл дистильованої води. Готові розчини подаються до ферментера, посівного апарата, інокуляторів (ТП 8.1., ТП 5.7., ТП 5.6., ТП 5.5.). через мембранні фільтри 0,22мкм. Готові розчини зберігаються потягом 6 діб. Ємності від використаних розчинів надходять до знешкодження твердих відходів (ЗВ 8.2.).

ДР 4. Приготування та стерилізація поживних середовищ

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

Для приготування посівного матеріалу на качалочних колбах необхідно приготувати 400 мл поживного середовища. Вміст компонентів для середовища наведено в табл. 4.1.

Таблиця 4.1

Композиції та кількість компонентів поживного середовища в колбах на качалках

Компоненти поживного середовища	Кількість г/л	Кількість грам на 400мл	Композиція	Об’єм композиції, мл
Глюкоза	60	16	А	200
Кукурудзяний екстракт	1,5	0,6 мл		
Вода	183,4 мл			
KH_2PO_4	0,25	0,1	Б	100
$(NH_4)_2SO_4$	0,59	0,24		
KCl	0,25	0,1		
Вода	99,56 мл			
$MgSO_4x7H_2O$	0,25	0,1	В	100
$Ca(NO_3)_2x4H_2O$	1	0,4		
Вода	99,5 мл			
Разом:			400 мл	

ДР 4.1.1. Приготування та стерилізація композиції А

Композиція А готується та стерилізується в колбі місткістю 0,5 л. На електронних вагах зважують 16 г глюкози, та відміряють шприцом 0,6 мл

кукурудзяного екстракту. Вносять в колбу та заливають 183,4 мл дистильованої води. Перемішують та закривають ватно-марлевою пробкою. Стерилізація відбувається за температурою 112°С, тиском 0,05 МПа 20-30 хв.

ДР 4.1.2. Приготування та стерилізація композиції Б

Композицію Б готують та стерилізуються в колбі об'ємом 250 мл. На електронних вагах зважують KH_2PO_4 0,1 г, $(NH_4)_2SO_4$ 0,24 г, KCl 0,1г. Вносять в колбу та заливають 99,56 мл дистильованої води. Перемішують та закривають ватно-марлевою пробкою. Стерилізація відбувається за температурою 131°С, тиску 0,15 МПа 40 хв.

ДР 4.1.3. Приготування та стерилізація композиції В

Композицію Б готують та стерилізуються в колбі об'ємом 300 мл. На електронних вагах зважують $MgSO_4 \times 7H_2O$ 0,1г, $Ca(NO_3)_2 * 4H_2O$ 0,4г. Вносять в колбу та заливають 99,5 мл дистильованої води. Перемішують та закривають ватно-марлевою пробкою. Стерилізація відбувається за температурою 131°С, тиску 0,15МПа 40 хв.

ДР 4.1.4. Змішування композицій

Після охолодження до 35-40°С композиції А, Б та В в стерильних умовах зливаються в колбу об'ємом 500 мл. Готове стерильне поживне середовище надходить на етап підготовки посівного матеріалу в колбах на качалках (ТП 5.4.).

Використані колби надходять до знешкодження твердих відходів (ЗВ 8.2.).

ДР 4.2. Приготування та стерилізація середовища для інокулятора 10 л

Для приготування посівного матеріалу в інокуляторі 10 л необхідно приготувати 3,8 л поживного середовища. Вміст компонентів для середовища наведено в табл. 4.2.

Таблиця 4.2

Композиції та кількість компонентів поживного середовища для інокулятора 10 л

Компоненти поживного середовища	Кількість г/л	Кількість грам на 3,8 л	Композиція	Об'єм композиції, л
Глюкоза	60	228	А	3,0
Кукурудзяний екстракт	1,5	5,7		
Вода	2766,3 мл			
KH_2PO_4	0,25	0,95	Б	0,4
$(NH_4)_2SO_4$	0,59	2,24		
KCl	0,25	0,95		
Вода	395,86 мл			
$MgSO_4x7H_2O$	0,25	0,95	В	0,4
$Ca(NO_3)_2x4H_2O$	1	0,38		
Вода	398,67 мл			
Разом:			3,8 л	

ДР 4.2.1. Приготування та стерилізація композиції А

Композиція А готується та стерилізується в калбі об'ємом 5 л. На електронних вагах зважують 228 г глюкози та відміряють 5,7 мл кукурудзяного екстракту. Вносять в інокулятор та заливають 2,8 л води. Перемішують, закривають та стерилізують за температурою 112°С, тиском 0,05 МПа 20-30 хв.

ДР 4.2.2. Приготування та стерилізація композиції Б

Композицію Б готують та стерилізуються в колбі об'ємом 1 л. На електронних вагах зважують KH_2PO_4 0,95г, $(NH_4)_2SO_4$ 2,24г, KCl 0,95 г. Вносять в колбу та заливають 395,86 мл води. Перемішують та закривають ватно-марлевою пробкою. Стерилізація відбувається за температурою 131°С, тиску 0,15МПа 40 хв.

ДР 4.2.3. Приготування та стерилізація композиції В

Композицію В готують та стерилізуються в колбі об'ємом 1 л. На електронних вагах зважують $MgSO_4$*$7H_2O$ 0,95 г, $Ca(NO_3)_2$*$4H_2O$ 3,8 г.

Вносять в колбу та заливають 368,67 мл дистильованої води.

Перемішують та закривають ватно-марлевою пробкою. Стерилізація відбувається за температурою 131°С, тиску 0,15МПа 40 хв.

ДР 4.2.4. Змішування композицій

Після охолодження до 35-40°С стерильні композиції Б та В вносять стерильно до колби з композицією А, перемішують. Готове стерильне поживне середовище надходить на етап підготовки посівного матеріалу в інокуляторі на 10 л (ТП 5.5.).

ДР 4.3. Приготування та стерилізація середовища для інокулятора 63 л

Для приготування посівного матеріалу в інокуляторі 63 л необхідно приготувати 38,1 л поживного середовища. Вміст компонентів для середовища наведено в табл. 4.3.

Таблиця 4.3

Композиції та кількість компонентів поживного середовища для інокулятора 63 л

Компоненти поживного середовища	Кількість г/л	Кількість грам на 38,1л	Композиція	Об'єм композиції, л
Глюкоза	60	22590	А	35,1
Кукурудзяний екстракт	1,5	564,8 мл		
Вода	11,9452 л			
KH_2PO_4	0,25	94,1	Б	1,5
$(NH_4)_2SO_4$	0,59	222,1		
KCl	0,25	94,1		
Вода	1,0897 л			
$MgSO_4x7H_2O$	0,25	94,1	В	1,5
$Ca(NO_3)_2x4H_2O$	1	376,5		
Вода	1,0294 л			
Разом:			38,1л	

ДР 4.3.1. Приготування та стерилізація композиції А

Композиція А готується та стерилізується в інокуляторі об'ємом 70 л. На вагах зважують 22590 г глюкози та відміряють 564,8 мл кукурудзяного

екстракту. Вносять в інокулятор та заливають 11,9452 л води. Перемішують, закривають та стерилізують за температурою 112°С, тиском 0,05 МПа 20-30 хв.

ДР 4.3.2. Приготування та стерилізація композиції Б

Композицію Б готують та стерилізуються в колбі об'ємом 3 л. На електронних вагах зважують KH_2PO_4 94,1г, $(NH_4)_2SO_4$ 222,1г, KCl 94,1г. Вносять в колбу та заливають 1,0597 л води. Перемішують та закривають ватно-марлевою пробкою. Стерилізація відбувається за температурою 131°С, тиску 0,15МПа 40 хв.

ДР 4.3.3. Приготування та стерилізація композиції В

Композицію В готують та стерилізуються в колбі об'ємом 2л. На електронних вагах зважують $MgSO_4 \times 7H_2O$ 94,1г, $Ca(NO_3)_2 * 4H_2O$ 376,5г. Вносять в колбу та заливають 1,0294 л води. Перемішують та закривають ватно-марлевою пробкою. Стерилізація відбувається за температурою 131°С, тиску 0,15МПа 40 хв.

ДР 4.3.4. Змішування композицій

Після охолодження до 35-40°С стерильні композиції Б та В вносять стерильно до інокулятора з стерильною композицією А. Готове стерильне поживне середовище надходить на етап підготовки посівного матеріалу в інокуляторі на 70 л (ТП 5.6.).

Використані колби надходять до знешкодження твердих відходів (ЗВ 8.2.).

ДР 4.4. Приготування та стерилізація середовища для посівного апарата 700 л

Для приготування посівного матеріалу в інокуляторі 360 л необхідно приготувати 376,5 л поживного середовища. Вміст компонентів для середовища наведено в табл. 4.4.

Таблиця 4.4

Композиції та кількість компонентів поживного середовища для інокулятора 700 л

Компоненти поживного середовища	Кількість г/л	Кількість кг на 376,5 л	Композиція	Об'єм композиції, л
Глюкоза	60	22,59	А	276,5
Кукурудзяний екстракт	1,5	0,56		
Вода	253,35л			
KH_2PO_4	0,25	0,094	Б	50
$(NH_4)_2SO_4$	0,59	0,222		
KCl	0,25	0,094		
Вода	49,59 л			
$MgSO_4x7H_2O$	0,25	0,094	В	50
$Ca(NO_3)_2x4H_2O$	1	0,376		
Вода	49,53			
Разом:			376,5л	

ДР 4.4.1. Приготування та стерилізація композиції А

Композиція А готується та стерилізується в посівному апараті 630 л. На вагах зважують 22,59 кг глюкози та відміряють 0,56 л кукурудзяного екстракту. Вносять в посівний апарат та заливають 253,35 л води. Перемішують, закривають та стерилізують за температурою 112°С, тиском 0,05 МПа 20-30 хв.

ДР4.4.2. Приготування та стерилізація композиції Б

Композицію Б готують та стерилізуються в реакторі-змішувачі на 100л. На вагах зважують KH_2PO_4 0,094 кг, $(NH_4)_2SO_4$ 0,222 кг, KCl 0,094кг. Вносять в реактор-змішувач та заливають 49,59 л води. Перемішують, закривають та стерилізують за температурою 131°С, тиску 0,15МПа 40 хв.

ДР 4.4.3. Приготування та стерилізація композиції В

Композицію В готують та стерилізуються в реакторі-змішувачі на 100л. На вагах зважують $MgSO_4$*$7H_2O$ 0,094кг, $Ca(NO_3)_2$*$4H_2O$ 0,376кг. Вносять в реактор-змішувач та заливають 49,53л води. Перемішують, закривають та стерилізують за температурою 131°С, тиску 0,15МПа 40 хв.

ДР 4.4.4. Змішування композицій

Після охолодження до 35-40°С стерильні композиції Б та В по трубопроводу вносять стерильно до посівного апарата з стерильною композицією А. Готове стерильне поживне середовище надходить на етап підготовки посівного матеріалу в посівному апараті на 0,63 м³ (ТП 5.7.).

ДР 4.5. Приготування та стерилізація середовища для виробничого біосинтезу в ферментері 6,3 м³

Для біосинтезу глюконової кислоти у ферментері об'ємом 6,3 м³ необхідно приготувати 3728,2 л поживного середовища. Вміст компонентів для середовища наведено в табл. 4.5.

Таблиця 4.5

Композиції та кількість компонентів поживного середовища для інокулятора 6,3 м³

Компоненти поживного середовища	Кількість г/л	Кількість кг на 3728,2л	Композиція	Об'єм композиції, л
Глюкоза	60	223,7	А	1728,2
Кукурудзяний екстракт	1,5	5,6 л		
Вода	1326,58 л			
Конденсат	172,82 л			
KH_2PO_4	0,25	0,93	Б	500
$(NH_4)_2SO_4$	0,59	2,2		
KCl	0,25	0,93		
Вода	445,94 л			
Конденсат	50 л			
$MgSO_4x7H_2O$	0,25	0,93	В	500
$Ca(NO_3)_2x4H_2O$	1	3,73		
Вода	445,34 л			
Конденсат	50 л			
Глюкоза	90	335,5	Підживлюючий розчин	1000
Вода	564,4 л			
Конденсат	100 л			
Разом:			3728,2 л	

ДР 4.5.1. Приготування та стерилізація композиції А

Композиція А готується та стерилізується у виробничому ферментері 6,3 $м^3$ за допомогою об'ємно-вагового дозатора вносять 223,7 кг глюкози та 5,6 л кукурудзяного екстракту. Додають 1326,58 л питної води, вмикають перемішуючий пристрій до повного розчинення компонентів. Стерилізують за температурою 112°С, тиском 0,05 МПа 20-30 хв.

ДР 4.5.2. Приготування та стерилізація композиції Б

Композиція Б готується та стерилізується у реакторі-змішувачі 1 $м^3$ за допомогою вагів зважують та вносять KH_2PO_4 0,93 кг, $(NH_4)_2SO_4$ 2,2 кг, KCl 0,93кг. Додають 445,94 л питної води, вмикають перемішуючий пристрій до повного розчинення компонентів. Стерилізують за температурою 131°С, тиску 0,15МПа 40 хв.

ДР 4.5.3. Приготування та стерилізація композиції В

Композицію В готують та стерилізуються в реакторі-змішувачі на 1 $м^3$ На вагах зважують MgSO4*7H_2O 0,93кг, Ca(NO3)2*4H_2O 3,73 кг. Вносять в реактор-змішувач та заливають 445,34 л води. Перемішують, закривають та стерилізують за температурою 131°С, тиску 0,15МПа 40 хв.

ДР 4.4.4. Змішування композицій

Після охолодження до 35-40°С стерильні композиції Б та В по трубопроводу вносять стерильно до виробничого ферментера з стерильною композицією А. Готове стерильне поживне середовище надходить на етап виробничого біосинтезу (ТП 8).

ДР 4.5.5. Приготування та стерилізація підживлюючого розчину глюкози для виробничого біосинтезом

У складі поживного середовища джерелом вуглецю є глюкоза із загальною концентрацією 150 г/л. Однак, початкова концентрація джерела вуглецю у середовищі не повинна перевищувати 40 – 60 г/л, тому розчин глюкози буде вноситися порціями 60 г/л на початку, та 90 г/л, як підживлюючий розчин, в процесі біосинтезу.

Підживлення здійснюють на 18 год культивування та 36 год культивування.

Підживлювальний розчин глюкози готують у реакторі-змішувачі на 2000 л. Зважують 335,5 кг глюкози да додають 664,5 л питної води. Вмикають перемішування та стерилізують за температурою 112°С, при тиску 0,05 МПа протягом 20-30 хв. Стерильний розчин після охолодження подають на етап виробничого біосинтезу (ТП 8.1.).

ТП 5. Підготовка посівного матеріалу

ТП 5.1. Підтримання музейної культури

Музейну культуру *Aspergillus niger* ССМ8004 зберігають у пробірках зі скошеним сусло-агаром за температури 3 – 4°С. Роблять пересіви через кожні 3 – 4 місяці. При роботі з музейною культурою необхідно строго дотримуватися правил асептики задля запобігання контамінації сторонньою мікрофлорою.

ТП 5.2. Пересів культури на агаризоване середовище

Музейну культуру *Aspergillus niger*ССМ8004 (ТП 5.1.), що зберігається в пробірках з сусло-агаром, розсівають петлею окремі колонії на чашки Петрі з стерильним сусло-агаризованим поживним середовищем. Необхідно строго дотримуватися правил асептики та контролювати відсутність сторонньої мікробіоти на даному етапі роботі з культурою. Вирощують культуру 48 годин у термостаті при температурі 35°С. Окремі колонії передаються на ТП 5.3.

ТП 5.3 Вирощування робочої культури на агаризованих середовищах

Окремі колонії з чашки Петрі (від ТП 5.2.) пересівають у пробірки зі скошеним сусло-агаризованим поживним середовищем (згідно стандартів одна ізольована колонія використовується для засіву однієї пробірки). У пробірки пересівають колонії, які знаходяться на відстані не менше 1 см одна від одної. Вирощують культуру 48 годин у термостаті при температурі 35°С.

ТП 5.4. Вирощування культури в колбах на качалках

Для вирощування культури в колбах на качалках беруть колбу 500 мл з готовим стерильним середовищем від ДР 4.1.4. та розливають по 133 мл в 3 колби обє’мом 300 мл.

У пробірку з робочою культурою *A. niger* ССМ8004 (від ТП 5.3.) вносять

5 мл фізіологічного розчину. Далі вміст однієї пробірки вносять в 1 колбу.

Тривалість вирощування інокуляту у колбах на качалках становить 48 годин. Вирощування проводиться в шейкері при температурі 35°С. Швидкість обертів качалок – 50 об/хв.

Після закінчення вирощування інокуляту – проводять мікробіологічний контроль на відсутність сторонньої мікробіоти. Зразок беруть у кожній із 3 колб. Після його проведення посівний матеріал із колб вносять у стерильну засівну колбу об'ємом 500 мл. Вирощений інокулят передають до ТП 5.5.

ТП 5.5. Вирощування культури в інокуляторі об'ємом 6,3л

Вмикають посівний апарат об'ємом 6,3 л з стерильними композиціями від ДР 4.2.4. Вносять посівний матеріал (від ТП 5.4.). Вмикають мішалку, барботер, контролери рівня pH та температури. Для нейтралізації середовища та підтримки pH на рівні 5,5-6,5 в посівний апарат об'ємом 7 л подають 6%-вий розчин NaOH та HCl (від ДР 3.1., ДР 3.2.). Подають стерильне повітря від ДР 2.7.

Культивування проводиться за температури 35°С. Тривалість культивування даного етапу становить 48 годин. Під час культивування в посівному апараті швидкість обертання мішалки становить 50 обертів на хвилину. Також підтримується аерація на рівні 8 літрів на хвилину.

Вирощений посівний матеріал передається до технологічної стадії ТП 5.6. Відпрацьоване повітря передається на знешкодження газоподібних відходів (ЗВ 8.3.).

ТП 5.6. Вирощування культури в інокуляторі об'ємом 63 л

Вмикають посівний апарат об'ємом 63 л з стерильними композиціями від ДР 4.3.4. Вносять посівний матеріал (від ТП 5.5.). Вмикають мішалку, барботер, контролери рівня pH та температури. Для нейтралізації середовища та підтримки pH на рівні 5,5-6,5 в посівний апарат об'ємом 63 л подають 6%-вий розчин NaOH та HCl (від ДР 3.1., ДР 3.2.). Подають стерильне повітря від ДР 2.7.

Культивування проводиться за температури 35°С. Тривалість

культивування даного етапу становить 48 годин. Під час культивування в посівному апараті швидкість обертання мішалки становить 50 обертів на хвилину. Також підтримується аерація на рівні 8 літрів на хвилину.

Вирощений посівний матеріал передається до ТП 5.7.

Відпрацьоване повітря передається на знешкодження газоподібних відходів (ЗВ 8.3.)

ТП 5.7. Вирощування культури в інокуляторі об'ємом 0,63 м^3

Вмикають посівний апарат об'ємом 700 л з стерильними композиціями від ДР 4.4.4. Вносять посівний матеріал (від ТП 5.6.). Вмикають мішалку, барботер, контролери рівня pH та температури. Для нейтралізації середовища та підтримки pH на рівні 5,5-6,5 в посівний апарат об'ємом 30 л подають 6%-вий розчин NaOH та HCl (від ДР 3.1., ДР 3.2.). Під час культивування вносять у посівний апарат стерильне повітря від ДР 2.7.

Культивування проводиться за температури 35°С. Тривалість культивування становить 48 годин. Під час культивування в посівному апараті швидкість обертання мішалки становить 50 обертів на хвилину. Також підтримується аерація на рівні 8 літрів на хвилину.

Вирощений посівний матеріал передається до виробничого біосинтезу (ТП 6.). Відпрацьоване повітря передається на знешкодження газоподібних відходів (ЗВ 8.3.).

ТП 6. Виробничий біосинтез

ТП 6.1. Виробниче біосинтез у ферментері об′ємом 6,3 м^3

У виробничому ферментері об'ємом 6300 л знаходиться стерильне поживне середовище від ДР 4.5.4. Додають посівний матеріал від ТП 5.7. Вмикають ферментер, барботер, мішалку, контролер рівня pH та температури.

Для нейтралізації середовища та підтримки pH на рівні 5,5-6,5 в посівний апарат подають 6%-вий розчин HCl та NaOH (від ДР 3.1., ДР 3.2.).

Тривалість культивування складає 52 години при сталій температурі 30±1°С. Швидкість обертів мішалки становить 50 об/хв. Підтримується аерація на рівні 8 л/хв. Аерація підтримується очищеним стерильним повітрям (від ДР

2.7.). Під час виробничого біосинтезу відбувається два рази (18 год та 36 год) додавання підживлюючого розчину глюкози (від ДР 4.5.5.) у розмірі 500 л.

Через кожні 10 – 12 год відбирають проби для проведення мікробіологічного контролю та визначення концентрації глюконової кислоти. Процес культивування зупиняють коли буде досягнута концентрація цільового продукту 150 г/л.

Після закінчення виробничого біосинтезу відпрацьоване повітря передають на знешкодження газоподібних відходів (на ЗВ 8.3.). Культуральна рідина передається на подальшу стадію післяферментаційної обробки. Для тимчасового зберігання передають на етап зберігання культуральної рідини (ТП 7.1).

ТП 7. Зберігання

ТП 7.1. Зберігання культуральної рідини

Культуральну рідину (від ТП 6.1) за допомогою насосу подають в збірник, де відбувається зберігання, за кімнатною температури, до початку стадій очищення продукту.

ЗВ 8. Знешкодження відходів

ЗВ 8.1. Знешкодження рідких відходів

Рідкі відходи (ДР 1.1.3., ДР 1.2.1., ДР 1.2.2., ДР 1.3.1, ДР 1.3.2., ДР 1.4.1., ДР 1.4.3.) очищуються за допомогою багатоступеневої технології, яка включає фільтрацію, зокрема зворотний осмос, а також хімічне та біологічне очищення.

ЗВ 8. 2. Знешкодження твердих відходів

Тверді відходи, такі як використана пакувальна тара (від ДР 1.1.3., ДР 1.2.1., ДР 1.2.2, ДР 1.2.3., ДР 3.1., ДР 3.2., ДР 4.1.4., ДР 4.2.4.), відправляються до пунктів прийому вторинних сировин.

ЗВ 8. 3. Знешкодження газоподібних відходів

Газоподібні відходи (від ДР 1.4.2., ТП 5.5., ТП 5.6., ТП 5.7. ТП 8.1.) очищуються на фільтрувальних установках за допомогою уловлювальних систем та біофільтрів.

Висновки до розділу4.

Розроблено технологічну схему виробництва глюконової кислоти, яка передбачає чітку послідовність основних операцій. До них належать підготовка поживного середовища, його стерилізація, отримання посівного матеріалу, проведення процесу ферментації. Обґрунтовано вибір технологічного обладнання для кожного етапу виробництва та визначено оптимальні параметри технологічного процесу, що сприяють його ефективному функціонуванню.

РОЗДІЛ 5
КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ

5.1. Методики контролю на стадії біосинтезу

Контроль процесу біосинтезу під час культивування продуцентів Aspergillus niger є багатогранним і включає три основні групи параметрів: фізико-хімічні, біохімічні та мікробіологічні. Основна задача полягає у забезпеченні оптимальних умов для досягнення максимального виходу цільового продукту та підтримання стерильності.

Мікробіологічний контроль на етапі біосинтезу глюконової кислоти є ключовим складником забезпечення асептичності виробничого процесу та підтримання чистоти культури продуцента *Aspergillus niger* CCM8004. Основними завданнями цього контролю є оперативне виявлення сторонньої мікрофлори, оцінювання морфологічного стану продуцента, а також перевірка чистоти посівного матеріалу та культуральної рідини.

Після завершення кожного етапу підготовки посівного матеріалу здійснюється ретельний контроль якості, а у ферментаторі об'ємом 7 м³ ця процедура повторюється кожні 10-12 годин протягом усього періоду ферментації. Для аналізу проби об’ємом 10-20 мл відбираються за допомогою стерильного пробовідбірника в умовах асептики [29-30].

Спершу проводять мікроскопічний аналіз із використанням збільшення 400× та 1000×, оцінюючи морфологічні особливості міцелію (оптимальним вважається диспергований тип), його цілісність, а також перевіряючи відсутність сторонніх мікроорганізмів. Потім проби розводять у фізіологічному розчині та висівають на щільні поживні середовища: агар Сабуро – для оцінки росту основного продуцента та м’ясо-пептонний агар – для виявлення бактеріального контамінування.

Інкубація зразків проводиться при температурі 30-35 °C упродовж 48-72 годин. Культура вважається чистою за умови повної відсутності росту сторонньої мікрофлори. Окрім цього, за допомогою методу визначення колонієутворюючих одиниць встановлюють кількість життєздатних клітин, а вміст біомаси визначають гравіметричним методом [30].

Температура культивування підтримується на рівні 30 ± 1 °C шляхом використання платинового термодатчика у поєднанні із системою терморегуляції та тепловою сорочкою ферментера. Одним із ключових параметрів є регулювання рівня pH середовища, яке підтримується в межах 5,5-6,5 завдяки онлайн-моніторингу зі скляним pH-електродом. Для автоматичного коригування pH застосовуються 6 % розчини NaOH та HCl, що вводяться за допомогою перистальтичних насосів. Аерація культури здійснюється зі швидкістю 8 л/хв, а рівень розчиненого кисню (DO) відстежується кисневим електродом і підтримується на рівні 20–30 % насичення. Частота обертання гвинтової мішалки складає 50 об/хв і контролюється за допомогою тахометра. Моніторинг концентрації глюкози проводиться через періодичний відбір проб із подальшим хімічним аналізом. Підживлення середовища субстратом здійснюється двічі – на 18-й та 36-й годинах культивування [29].

5.2. Методи контролю глюконової кислоти

Контроль глюконової кислоти проводиться протягом усього процесу її біосинтезу, а також після завершення цього процесу. Основним методом для кількісного визначення продуктів є високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ). Аналіз проводять на колонці типу Aminex HPX-87H або аналогічній, використовуючи мобільну фазу з 0,005-0,01 N розчином сірчаної кислоти. Оптимальна робоча температура колонки становить 45-65 °C, а в якості детектора застосовують рефрактометричний аналізатор. Перед проведенням аналізу проби піддають центрифугуванню або фільтрації через мембранні фільтри з розміром пор 0,45 мкм. Ця методика дозволяє одночасно визначати концентрацію глюконової кислоти, залишкової глюкози та глюконолактону

[31].

Для швидкого контролю використовують титриметричний метод, який передбачає кислотно-основне титрування культуральної рідини 0,1 N розчином NaOH за допомогою фенолфталеїну, при цьому враховується фонове значення кислотності середовища. Також застосовують ферментативні методи з використанням комерційних наборів на основі глюконат-дегідрогенази, де зміна оптичної густини реєструється при довжині хвилі 340 нм [32].

Відбір проб для аналізу здійснюється періодично – кожні 10-12 годин. Після завершення процесу ферментації проводиться повний контроль кінцевої культуральної рідини, що включає перевірку мікробіологічної чистоти, оцінку органолептичних показників і визначення концентрації цільового продукту.

Висновок до розділу 5.

Розроблено систему якісного контролю глюконової кислоти, яка охоплює всі стадії її біосинтезу. Запропоновано комплексний підхід, що включає мікробіологічний контроль (оцінку чистоти культури та відсутність контамінації), а також фізико-хімічний і біохімічний аналіз. Як основний метод для визначення концентрації глюконової кислоти рекомендовано високоефективну рідинну хроматографію (ВЕРХ), а для швидкого аналізу – титриметричний метод. Встановлено основні параметри для онлайн-моніторингу, такі як температура, pH середовища та рівень розчиненого кисню, а також визначено періодичність відбору проб для точнішого контролю процесу.

ВИСНОВКИ

1. На основі аналізу високої поширеності дефіциту кальцію в Україні обґрунтовано доцільність створення вітчизняного виробництва. Розраховано річну потужність лінії – 66 421,6 кг глюконату кальцію (для забезпечення 5% цільового ринку), що потребує 442 811 л культуральної рідини на рік. Для реалізації цього об'єму необхідно провести 132 виробничі цикли у ферментері з робочим об'ємом 4101 л за цикл.

2. Шляхом три етапного порівняння трьох промислових штамів обрано мікроміцет *Aspergillus niger* CCM8004, який забезпечує найвищу концентрацію продукту (150 г/л) та максимальну продуктивність (2,77 г/л/год) за найменший час (54 год). Обґрунтовано застосування глибинного періодичного культивування у ферментері об'ємом 7 $м^3$. Розраховано 4-стадійну схему нарощування посівного матеріалу та параметри роздільної стерилізації трьох композицій середовища.

3. Розроблено технологічну схему біосинтезу, що охоплює допоміжні роботи та сам виробничий процес ферментації В технологічній схемі було обґрунтовано такі основні моменти, як підготовка стерильного повітря, підготовка титрувальних розчинів, стадії підготовки поживного середовища, підготовка посівного матеріалу протягом. Біосинтез глюконової кислоти відбувався протягом 52 годин при 30°С із підживленням глюкозою на 18 та 36 годинах з кінцевим виходом цільового продукту 150 г/л.

4. Сформовано комплексну систему контролю якості. Вона передбачає постійний онлайн-моніторинг параметрів культивування (температура 30±1°С, pH 5,5-6,5, насичення киснем 20-30%), мікробіологічний контроль стерильності кожні 10-12 годин за допомогою мікроскопії та висіву на МПА/Сабуро, а також точне кількісне визначення глюконової кислоти методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ).

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. *Morgunov I. G. and Anastassiadis S.* Gluconic acid production. *Recent Patents on Biotechnology.* 2007, 1(2):167-80.doi: 10.2174/187220807780809472

2. *Yan Ma, Bing Li et al.* Production of Gluconic Acid and Its Derivatives by Microbial Fermentation: Process Improvement Based on Integrated Routes. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology.* 2022, 10:864787. doi: 10.3389/fbioe.2022.864787

3. *Ramachandran S, Fontanille P, Pandey A, Larroche C.* Gluconic acid: properties, applications and microbial production. *Food Technol Biotechnol.* 2006. 44(2):185-195.

4. *Om V Singh and Raj Kumar.* Biotechnological production of gluconic acid: future implications. *Applied Microbiology and Biotechnology.* 2007, 75(4):713-22. doi: 10.1007/s00253-007-0851-x

5. *Ramachandran S., Nair S. et al.* 26 - Gluconic Acid. *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering.* 2017, 577-599. doi: 10.1016/B978-0-444-63662-1.00026-9

6. *Chakraborty A, Patel P, Can AS.* Calcium Gluconate. *StatPearls.* Treasure Island: StatPearls Publishing; 2024 Fab.-28. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557463/

7. Рахіт - НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ Кафедра фармакології та клінічної фармації. Кафедра фармакології та фармакотерапії НФаУ. URL:https://pharmacolpharmacother.nuph.edu.ua/rahit/#:~:text=81%2C8%25%20%D0%B4%D0%BE%D1%80%D0%BE%D1%81%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%BE%20%D0%BD%D0%B0%D1%81%D0%B5%D0%BB%D0%B5%D0%BD%D0%BD%D1%8F%20%D0%A3%D0%BA%D1%80%D0%B0%D1%97%D0%BD%D0%B8,%D0%B2%D1%96%D0%B4%2010%20%D0%B4%D0%BE%2030%25%20%D0%B4%D1%96%D1%82%D0%B5%D0%

8. *Grygorieva N. et al.* Calcium intake in an adult Ukrainian population. *Archives of osteoporosis.* 2020. Vol. 15, no. 1. doi: org/10.1007/s11657-020-0712-0

9. Кальцію глюконат-Дарниця таблетки по 500 мг №10. Tabletki.ua. URL: https://tabletki.ua/uk/Кальция-глюконат-дарница/3316/#productCardFeatures

10. *Znad H., Markoš J.and Baleš V.* Production of gluconic acid from glucose by Aspergillus niger: growth and non-growth conditions. *Process Biochemistry.* 2004, 39(11): 1341-1345. doi: 10.1016/S0032-9592(03)00270-X

11. *Zhang H., Zhang J. and Bao J.* High titer gluconic acid fermentation by Aspergillus niger from dry dilute acid pretreated corn stover without detoxification. *Bioresource Technology.* 2016, 203:211-219. doi: 10.1016/j.biortech.2015.12.042

12. *Subhamay B., Ramesh K. and Parimal P.* Fermentative production of gluconic acid: A membrane-integrated Green process. *Journal of the Taiwan Institute of*

Chemical Engineers. 2018, 84:76-84. doi: 10.1016/j.jtice.2018.01.030

13. *Singh O. V., Kumar R.* Biotechnological production of gluconic acid: future implications. *Applied microbiology and biotechnology*. 2007. Vol. 75, no. 4. P. 713-722. doi: org/10.1007/s00253-007-0851-x

14. Гуляєв В.М. Методичні вказівки до практичних занять з дисципліни «Основи проектування» для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» Кам'янське: ДДТУ, 2019 р. – 71 с.

15. Універсальний циліндрично-конічний ферментер ємністю 7200 л / 3.0 бар. Czech Brewery System.
URL: https://eshop.czechminibreweries.com/uk/product/cct-shp3-6000de/

16. *Moo-Young M.* Comprehensive Biotechnology. *Elsevier Science & Technology Books*, 2011.

17. *Карлаш Ю. В., Красінько В. О.* Основи проектування біотехнологічних виробництв: навч. посіб. Київ: НУХТ, 2022. С. 214−244.

18. What is CIP Cleaning?. Sani-Matic. URL: https://sanimatic.com/what-is-cip-cleaning/

19. *Головей О. П., Гуляєв В. М.* Конспект лекцій з дисципліни «Асептика біотехнологічних виробництв» освітньопрофесійної програми другого (магістерського) рівня вищої освіти зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» усіх форм навчання. Кам'янське: ДДТУ, 2017. С. 64−67.

20. Кальцинована сода | Агропро. Агропромисловий бізнес-портал. URL: https://agropro.biz/product/kaltsinovana-soda

21. Біомой методичні вказівки (інструкція по застосуванню). ДезцентерПлюс. URL:https://dezmed.com.ua/instruktsiia/item/biomoj-metodicheskie-rekomendatsii-instruktsiya-po-primeneniyu/.

22. Schoch CL, et al. NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. Database (Oxford). 2020: baaa062. PubMed: 32761142 PMC: PMC7408187.

23. *Ronglu Yu, Jia Liu et al.* Aspergillus niger as a Secondary Metabolite Factory. *Frontiers in Chemistry*. 2021, 9:701022. doi: 10.3389/fchem.2021.701022

24. *Schuster E., Dunn-Coleman N. et al.* On the safety of Aspergillus niger − a review. *Applied Microbiology and Biotechnology.* 2002, 59:426-435. doi: 10.1007/s00253-002-1032-6

25. *Cairns C. T., Barthel L. and Meyer V.* Something old, something new: challenges and developments in Aspergillus niger biotechnology. *Essays in Biochem.* 2021, 65 (2): 213–224. doi: 10.1042/EBC20200139

26. *Opperman C.J., Copelyn J.* Aspergillus niger otomycosis in a child with chronic otitis externa. *Southern african journal of infectious diseases*. 2020. Vol. 35, no. 1. P. 2313–1810. Doi: org/10.4102/sajid.v35i1.128

27. Aspergillus niger. Fun With Microbiology (What's Buggin' You?). URL: https://thunderhouse4-yuri.blogspot.com/2010/06/aspergillus-niger.html

28. *Гудзь С. П., Гнатуш С. О., Білінська І. С.* Мікробіологія: підручник: для студ.вищ.навч.закл. Львів: Видавничий центр ЛНУ імені Івана Франка. 2009, 360 с. ISBN 978-966-613-697-1.

29. Principles of Fermentation Technology. Butterworth-Heinemann. 2017. P. 777-803. doi: org/10.1016/B978-0-08-099953-1.00019-3.

30. *Papagianni M.* Advances in citric acid fermentation by Aspergillus niger: biochemical aspects, membrane transport and modeling. *Biotechnology advances.* 2007. Vol. 25, no. 3. P. 244–263. Doi: org/10.1016/j.biotechadv.2007.01.002

31. *Vanitha Madhuri T. et al.* Advances in High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) and Ultra-Performance Liquid Chromatography (UPLC). *Journal of pharma insights and research.* 2024. Vol. 2, no. 6. P. 039-046. doi: org/10.69613/t4nhz921

32. *Bassett J. et al.* Vogel's textbook of quantitative chemical analysis: 5th ed. John Wiley & Sons Inc, 1989. P. 980.

Міністерство освіти і науки України
ДНУ «Інститут модернізації змісту освіти»
Український державний університет науки і технологій
ННІ «Український державний хіміко-технологічний університет»

СЕРТИФІКАТ УЧАСНИКА

підтверджує, що

Людмила СЕНЕЧКО

взяв(ла) участь в роботі
XII Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції
здобувачів вищої освіти та молодих учених
«ХІМІЯ І СУЧАСНІ ТЕХНОЛОГІЇ»
Загальна кількість академічних годин: 12 год. (0,4 кредита ECTS)

член-кореспондент НАНУ
д.т.н., професор,
ректор УДУНТ

Костянтин СУХИЙ

д.х.н., професор,
директор ННІ УДХТУ

Ольга СВЕРДЛІКОВСЬКА

Міністерство освіти і науки України
Український державний університет науки і технологій
ЄДРПОУ 44165850
місто Дніпро

Український державний хіміко-технологічний університет
1930

ЕКОЛОГІЧНА БЕЗПЕКА

м. Дніпро
20–22 травня 2026

ЗАСТОСУВАННЯ ГЛЮКОНОВОЇ ТА АСКОРБІНОВОЇ КИСЛОТ У ХАРЧОВІЙ ПРОМИСЛОВОСТІ

Сенечко Л.П., Шевчик О.М., Охмат О.А.
e-mail: otalan@ukr.net
Київський національний університет технологій та дизайну
Україна, Київ

Глюконова (Е574) та аскорбінова (вітамін С, Е300) кислоти – важливі харчові добавки, які широко застосовують у сучасній харчовій промисловості завдяки регуляції кислотності, антиоксидантній дії, стабілізації та покращенню сенсорних характеристик продуктів.

Обидві речовини визнані безпечними, дозволені в ЄС та багатьох країнах за принципом «quantum satis» і відповідають концепції «чистої етикетки». Відповідно до цього принципу, харчова добавка не має чітко встановленої максимальної норми і її використовують у кількості, необхідній для досягнення потрібного технологічного ефекту. Основою принципу є належна виробнича практика (GMP), де безпека гарантується через контроль якості, а не шляхом обмеження використання [1].

Глюконову кислоту виробляють переважно мікробною ферментацією глюкози за допомогою *Aspergillus niger* або бактерій роду *Gluconobacter*. Її солі (натрію глюконат) та лактони, такі як глюконо-дельта-лактон (GDL) мають широке застосування. У харчовій промисловості глюконова кислота діє як регулятор кислотності, секвестрант (хелатуючий агент), консервант та покращувач смаку. Вона надає освіжаючого кислого смаку без надмірної терпкості, інгібує гіркоту та запобігає помутнінню в напоях [2].

У молочній промисловості глюконову кислоту та GDL використовують для запобігання утворенню молочного каменю, коагуляції білка при виробництві сиру та тофу, а також стабілізації йогуртів і кисломолочного сиру. GDL діє як повільний кислотний агент, забезпечуючи контрольоване зниження pH і покращення текстури продукту.

У м’ясній промисловості похідні глюконової кислоти застосовують як підкислювач для ковбас, що сприяє збереженню кольору продукту та зменшенню витрати солі при його виробництві. У хлібопекарській і кондитерській галузях GDL входить до складу розпушувачів. Глюконати регулюють рівень pH у напоях, желе, джемах і заморожених продуктах, запобігають окисненню, зберігають колір та покращують засвоєння кальцію й заліза завдяки хелатуючим властивостям [3].

Аскорбінова кислота (Е300) та її похідні (наприклад, Е301-Е304) є потужними антиоксидантами та джерелом вітаміну С. Вони запобігають окисненню, зберігають колір, смак і поживну цінність продуктів, інгібують

утворення нітрозамінів у м'ясних виробах, а також широко використовуються як консерванти і стабілізатори [1,4].

У м'ясній промисловості аскорбінова кислота підтримує червоний колір м'яса, запобігаючи утворенню метміоглобіну, і подовжує термін придатності. У хлібопекарській галузі вона діє як окиснювач тіста, зміцнюючи глютен і покращуючи об'єм хліба. У виробництві фруктових соків, пюре, консервуванні плодів і овочів аскорбінова кислота запобігає ферментативному потемнінню шляхом інгібування поліфенолоксидази [1].

В напоях, кондитерських виробах, желе та джемах аскорбінова кислота захищає аромат і колір, стабілізує продукт та подовжує термін зберігання. Крім того, вона збагачує продукти вітаміном С, синергічно діє з іншими антиоксидантами та покращує засвоєння заліза [4].

Синергетичне використання глюконової та аскорбінової кислот є ефективним у сучасних харчових технологіях. Поєднання дозволяє одночасно регулювати pH, запобігати окисненню та стабілізувати фізико-хімічні властивості продуктів. У функціональних напоях глюконова кислота забезпечує оптимальну кислотність і стабільність, а аскорбінова – захищає активні компоненти від окиснення. Така комбінація кислот зменшує потребу в синтетичних консервантах [4].

Отже, глюконова та аскорбінова кислоти відіграють ключову роль у забезпеченні якості, безпечності та стабільності харчових продуктів. Їх широке застосування обумовлене високою ефективністю, біосумісністю, низькою токсичністю та відповідністю сучасним вимогам до харчових добавок.

Література:

1. The use of ascorbic acid as a food additive: technical-legal issues / M. Varvara, G. Bozzo, G. Celano et al. – Italian journal of food safety. – 2016. – Vol. 5, №. 1. 4313. https://doi.org/10.4081/ijfs.2016.4313

2. Production of gluconic acid and its derivatives by microbial fermentation: Process improvement based on integrated routes / Y. Ma, B. Li, X. Zhang et al. – Frontiers in Bioengineering and Biotechnology. – 2022. – Vol. 10. 864787. https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.864787

3. Catalysts and processes for gluconic and glucaric acids production: A comprehensive review of market and chemical routes / J. V. Machado, M. L. A. da Silva, C. L. S. Silva et al. – Catalysis Communications. – 2023. – Vol. 182. 106740.https://doi.org/10.1016/j.catcom.2023.106740

4. Advances in ascorbic acid (vitamin C) manufacturing: green extraction techniques from natural sources / F. Susa, R. Pisano. – Processes. – 2023. – Vol. 11, №. 11. 3167. https://doi.org/10.3390/pr11113167