

*Использование биологической активной добавки
глутаминовой кислоты, полученный
биотехнологическим методом для лечения
неврологических заболеваний*

Мой проект связан после ковидных осложнений, такие как нарушением памяти, склероз, нарушением функций головного мозга , болезнь Паркинсона и для нормализации обмена веществ в организме человека. И для решения этих проблем я решила создать новую форму глутамин, удобная для употребления.

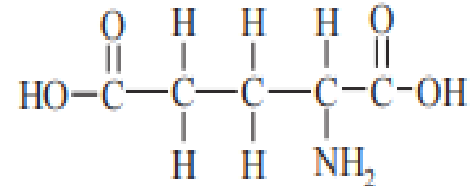
Эшманова Малохат Бахтиёр қизи
Руководитель: Назаров. Ғ.А

Цель проекта

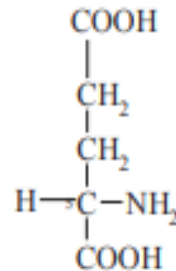
Целью проекта является, создать отечественный препарат. получить с помощью биотехнологических методов чистую форму глутаминовой кислоты и провести ряд исследований, для получения биологически активного вещества и создать новую форму выпуска глутаминовой кислоты для лучшего усвоения в организме человека.

Строение и свойства глутаминовой кислоты

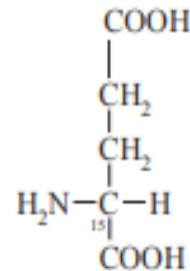
Глутаминовая кислота (α-аминоглутаровая) относится к моноаминодикарбоновым кислотам и имеет следующую структурную формулу:



Она имеет асимметричный атом углерода (α-углеродный атом), поэтому является оптически активным веществом и существует в виде двух энантиомеров:



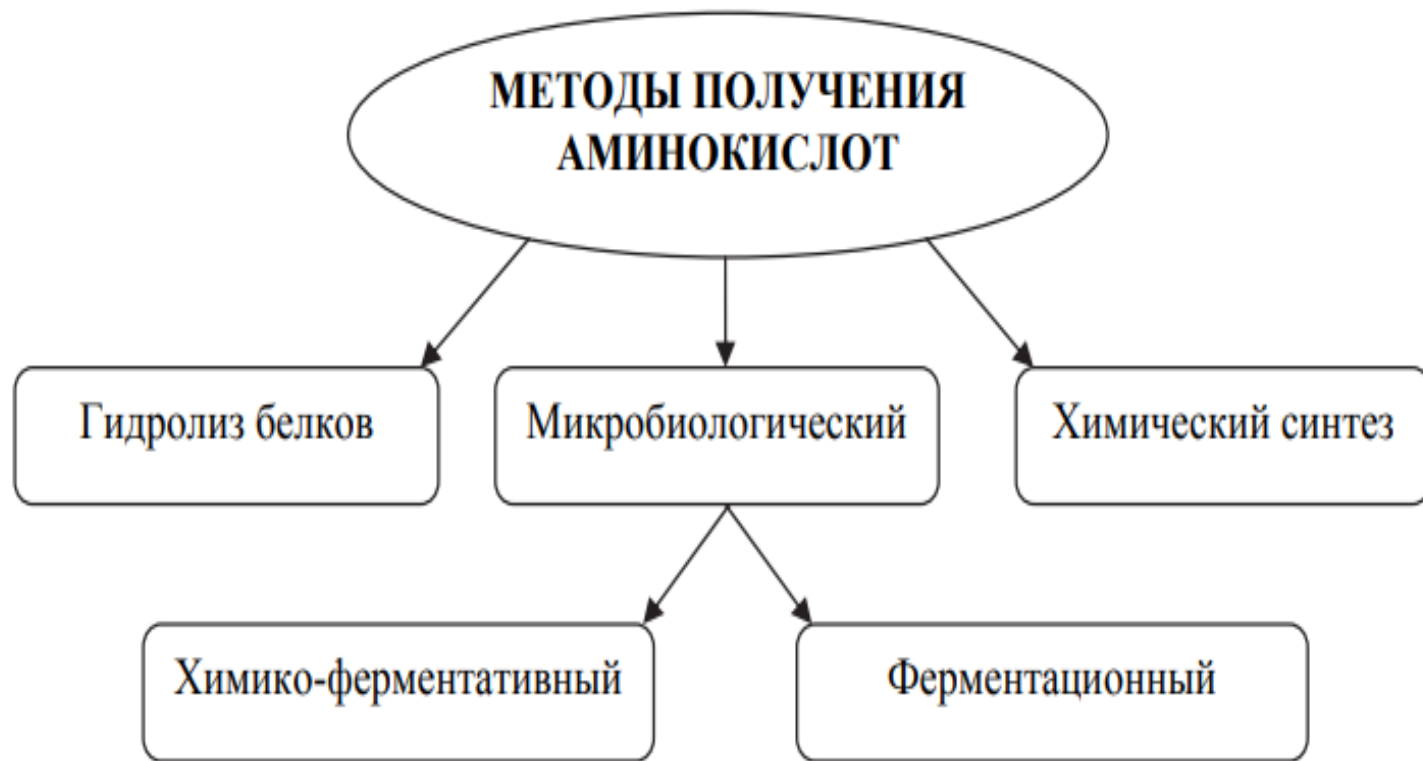
L(+) глутаминовая
кислота



D(-) глутаминовая
кислота

Биологическая активность оптических изомеров глутаминовой кислоты неодинакова, что выражается во вкусе моноватриевой соли и лечебном действии кислоты в L-форме. Этими свойствами D-глутаминовая кислота не обладает. Молекулярный вес глутаминовой кислоты – 147,13; содержание азота – 9,51 %.

Методы получения аминокислот в промышленных масштабах



Технологическая схема получения аминокислот микробиологическим методом



Более 60% всех производимых в настоящее время высокоочищенных препаратов аминокислот получают именно этим способом, главное преимущество которого в сравнении с методами химического синтеза состоит в возможности получения L-аминокислот из возобновляемого сырья.

Материалы и методы

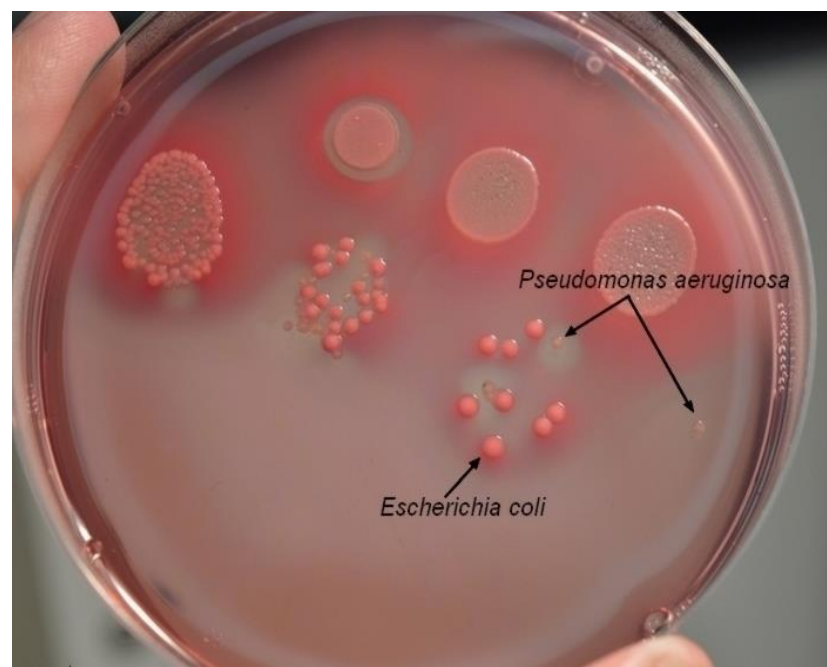
Процесс получения аминокислот ферментационным методом основан на способности некоторых микроорганизмов синтезировать L-аминокислоты, а в определенных условиях – обеспечивать их сверхсинтез. Основное отличие микробиологической ферментации от химико-ферментативного метода заключается в отсутствии стадии химического синтеза предшественника, а также в использовании живых клеток микроорганизмов.

Продуцентами аминокислот в биосинтезе являются бактерии родов *Corynebacterium*, *Brevibacterium*, *Escherichia*, *Micrococcus*, субстратом – углеводное сырье (меласса, гидролизаты крахмала и целлюлозы), этанол, уксусная или другие органические кислоты, а также углеводороды. В качестве источника азота используют соли аммония, нитраты, а также аминокислоты.

На основе культивирования микроорганизмов для получения чистых препаратов аминокислот применяют промышленные технологии, включающие одно- и двухступенчатый синтез аминокислот. При одноступенчатом синтезе в промышленных культиваторах выращивают ауксотрофные регуляторные мутанты, являющиеся сверхпродуцентами аминокислот. После завершения рабочего цикла их выращивания культуральную жидкость отделяют от клеток микроорганизмов, сгущают и получают товарный продукт с высокой концентрацией целевой аминокислоты. В процессе двухступенчатого синтеза вначале с помощью одного штамма микроорганизмов получают предшественник, а затем с помощью другого штамма превращают предшественник в целевую L-аминокислоту.

Микробиологический синтез

При двухступенчатом микробиологическом синтезе в качестве продуцентов α -кетоглутаровой кислоты могут быть использованы *Pseudomonas* и *Escherichia*. При культивировании продуцента *Kluuverd citrophila* α -кетоглутаровая кислота была получена с 57% выходом. Дрожжи рода *Candida* при выращивании на парафинах продуцируют α -кетоглутаровую кислоту совместно с пировиноградной в соотношении 6:1. Экономический коэффициент процесса биосинтеза достигает 90% от количества потребленных углеводов.

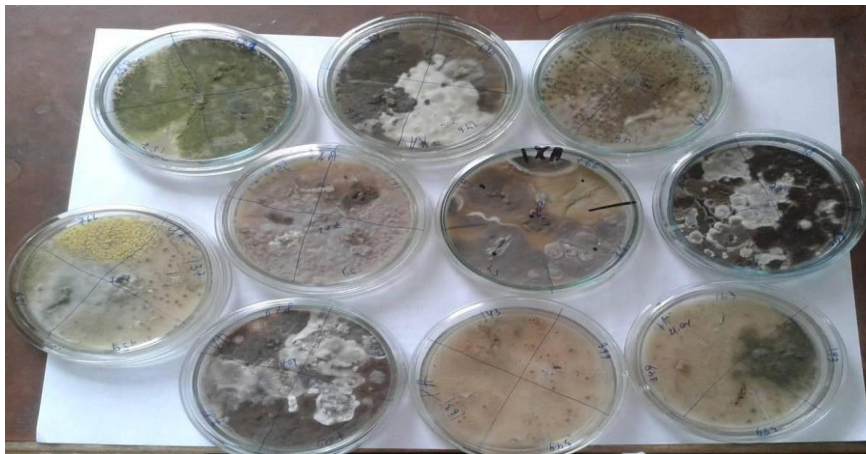


Pseudomonas и *Escherichia*

Вторую стадию микробиологического синтеза – восстановительное аминирование – можно осуществить с помощью бактерий рода *Pseudomonas* или *Aeromonas* (при использовании *Pseudomonas ovalis* выход L-глутаминовой кислоты составляет 60%). Наиболее перспективным и широко используемым способом производства глутаминовой кислоты является одноступенчатый микробиологический синтез. Продуцировать глутаминовую кислоту способны дрожжи, микроскопические грибы, бактерии. Бактерии обеспечивают наибольший выход по отношению к использованному углеродному субстрату. Промышленное значение имеют такие бактериальные культуры, как *Micrococcus*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium*. Сверхсинтез кислоты у диких штаммов возможен в специальных физиологических условиях при торможении скорости роста и увеличении проницаемости клеточной мембраны для глутаминовой кислоты. Такие условия обеспечивает определенная концентрация биотина в среде (1–5 мкг/л) и присутствие некоторых антибиотиков. Внутриклеточная концентрация глутаминовой кислоты снижается в результате экскреции продукта во внешнюю среду, поэтому регуляция синтеза конечным продуктом ослабевает. Сверх продукция глутаминовой кислоты связана и с высокой концентрацией аммония в среде, высокой активностью НАД(Ф)Н-зависимой глутаматдегидрогеназы и отсутствием или дефектом кетоглутаратдегидрогеназы, катализирующей превращение 2-кето-глутарата в янтарную кислоту.

Технологические стадии производства глутаминовой кислоты

1. Приготовление питательной среды. Питательная среда содержит 5% сахарозы, 1% мочевины, 1,5% мелассы и по 0,1% сульфата магния, одно- и двухзамещенного фосфата калия; рН 6,8–7,5; температура 30°C. Инкубация на каждой стадии длится 24 ч. Инокулят готовят в аэробных условиях на среде такого же состава в ферментаторах объемом 200 л и 5 м³ до получения 6–8 г/л сухой биомассы.



2. Производственное культивирование. Инокулят в количестве 5–6% переносят в главный ферментатор объемом 50 м³, 70% общего объема которого занимает питательная среда следующего состава: 8,5–10% сахарозы, 1,2% мелассы, 0,5% мочевины, по 0,1% одной и двухзамещенного фосфата калия, по 0,01% сульфата марганца и сульфата цинка. Интенсивность аэрации – 40–45 мг О₂/мин, рН 7,8–8,0, температура – 30°C. Ферментация длится 2 сут. За это время в среде накапливается глутаминовой кислоты до 50 г/л.

3. Освобождение целевого продукта из биомассы методом центрифугирования. Фильтрат осветляют активированным углем.
4. Концентрирование культуральной жидкости в выпарном аппарате до 40–50% абсолютно сухого вещества при температуре не выше 70°C.
5. Кристаллизация и последующее подкисление целевого продукта до рН 3,2 и охлаждение его до 15°C до тех пор, пока в маточном растворе остается не более 20-30 г глутаминовой кислоты. Глутаминовая кислота используется как лекарственное средство, поэтому получают ее в высокоочищенном виде. Для этого на первом этапе обработки культуральной жидкости в нее добавляют негашеную известь или известковое молоко, затем избыток ионов Ca^{2+} осаждают фосфорной кислотой, осадок удаляют центрифугированием.

Полученный супернатант осветляют активированным углем. Глутаминовую кислоту выделяют на ионообменных смолах. Элюаты обессоливают и концентрируют под вакуумом на роторном испарителе при 40–60°C. Осаждение кристаллов глутаминовой кислоты проводят соляной кислотой в изоэлектрической точке (рН 3,2 при 4–15°C). В результате нескольких переосаждений чистота продукта достигает 99,6%. Кристаллы кислоты отделяют от маточника центрифугированием, промывают холодным раствором соляной кислоты (рН 3,2) и сушат. При дополнительном извлечении из маточников выход конечного продукта достигает 87%.

Проблемы потребителей

На сегодняшний день в нашем регионе люди страдают от стрессов на работе, постоянные недосыпания, усталость, потеря памяти, или студенты которые не могут сосредоточиться, концентрировать своё внимание на одну точку, пожилые люди которые не могут вспомнить чего они хотели. Но самое главное это люди с синдромом Паркинсонизма и дети с синдромом Дауна. Население, которое переболело корона вирусом, на сегодняшний день больше миллиона. Но слабость, потеря аппетита, головные боли, нарушение работы нервной системы очень ослабло. Также люди которые болеют печеночными заболеваниями как цирроз печени, гепатитом, у них тоже возникает проблемы с метаболизмом, обменами веществ. Всё что перечислено выше, это связано с аминокислотами, которые не достаточно попадают на наш организм через пищу. Ведь основной момент для восстановления клеток и тканей человека большую роль играют белки то есть аминокислоты, которые необходимо заполнять .

Какую роль играет в организме глутаминовая кислота и зачем она нам нужна

Глутаминовая кислота играет основную роль в азотистом обмене, является стимулятором окислительно-восстановительных процессов в головном мозге и важным компонентом миофибрилл (органеллы клеток поперечнополостных мышц); она нормализует обмен веществ и повышает устойчивость организма к гипоксии.

Выполняет множество функций:

- Синтез аминокислот;
- Биосинтез углеводов;
- Стимуляция азотистого обмена;
- Обезвреживание и вывод аммиака;
- Также оказывает достаточно сильное антикатаболитическое действие и защищает организм от потери мышечной массы.

Также важное значение уделяется нейромедиаторной функции глутаминовой кислоты, то есть он может приводить к возбуждению нейронов, то есть стимулирует передачу возбуждения нейронов в ЦНС.

Форма выпуска

Глутаминовая кислота у нас будет упаковано в желатиновых капсулах, в микро-гранулах. То есть удобность в том что, желатиновые капсулы будут растворены в желудочной кислоте, а сами гранулы будут всасываться в двенадцатиперстной кишке, который имеет множество ворсинок, который всасывает микро-гранулы и даёт микро-гранулам попасть в кровоток.



Заклучение

Впервые в Республике Узбекистан выделена *Corynebacterium*, *Escherishia* глутаминовой кислоты и изучены ее физико-химические свойства.

Выделение глутаминовой кислоты выполнялся в Институте Биорганике

С руководителем Назаров Голиб Абдишукуровичем и также были проведены исследования с помощью спектрофотометрии, спектральной фотометрия. На данный момент информация о кислоте уже имеется.



Спасибо за внимание)