

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации

**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Саратовский государственный аграрный университет
имени Н.И. Вавилова»**

ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ

краткий курс лекций

для бакалавров III курса

Направление подготовки
19.03.01 Биотехнология

Профиль подготовки
Биотехнология

Саратов 2015

УДК 575
ББК 30
Ф28

Рецензенты:

Заведующая кафедрой «Экология», доктор биологических наук,
профессор ФГБОУ ВО «Саратовской государственной технической университет имени
Гагарина Ю.А.»

Е.И. Тихомирова

Профессор кафедры «Микробиология, биотехнология и химия»,
доктор биологических наук, профессор ФГБОУ ВО «Саратовский ГАУ»

А.А. Щербаков

Ф28 **Основы биотехнологии:** краткий курс лекций для студентов III курса на-
правления подготовки 19.03.01 Биотехнология / Сост.: Е.А. Фауст // ФГБОУ
ВО «Саратовский ГАУ». – Саратов, 2015. – 52 с.

Краткий курс лекций по дисциплине «Основы биотехнологии» составлен в соответствии с рабочей программой дисциплины и предназначен для студентов направления подготовки 19.03.01 Биотехнология. Краткий курс лекций содержит теоретический материал об этапах формирования биотехнологии как науки; основных объектах и методах биотехнологии; сырьевой базе биотехнологии; рассмотрена роль биотехнологии для различных областей народного хозяйства; основные стадии биотехнологических производств. Курс лекций направлен на формирование у студентов знаний о роли, значении и месте биотехнологии в народном хозяйстве, а также основ реализации биотехнологических процессов.

УДК 575
ББК 30

© Фауст Е.А., 2015
© ФГБОУ ВО «Саратовский ГАУ», 2015

Введение

Биотехнология является в настоящее время одним из приоритетных направлений науки, с которым связывают благосостояние всего человечества в обозримом будущем. Однако достижения биотехнологии становятся реальной помощью народному хозяйству и отдельным людям лишь тогда, когда на их основе создаются промышленные производства, функционирование которых направлено на разработку практически ценных продуктов.

Краткий курс лекций содержит теоретический материал об этапах формирования биотехнологии как науки; основных объектах и методах биотехнологии; сырьевой базе биотехнологии; рассмотрена роль биотехнологии для различных областей народного хозяйства; основные стадии биотехнологических производств (подготовительные, вспомогательные и постферментационные стадии, собственно биотехнологическая стадия).

Курс лекций направлен на формирование у студентов знаний о роли, значении и месте биотехнологии в народном хозяйстве, а также основ реализации биотехнологических процессов.

БИОТЕХНОЛОГИЯ КАК НАУКА

1.1. Цель, задачи и предмет биотехнологии

Биотехнология – от греч. *bio(s)* – жизнь; *techne* – искусство, мастерство; *logos* – учение.

Впервые термин «биотехнология» предложил в 1917 г. венгерский инженер Карл Эрике. Он предложил процесс крупномасштабного промышленного выращивания свиней с использованием в качестве корма сахарной свеклы. При этом Эрике рассматривал превращение сырья (свеклы) в целевой продукт (свинину) как ряд биотехнологических этапов. Этот процесс был назван им биотехнологией, так как целевой продукт получался в результате жизнедеятельности биологических систем.

Второе рождение и популярность термин «биотехнология» приобрел после того, как в 1961 г. шведский микробиолог Карл Герен Хеден предложил заменить название научного журнала «Журнал микробиологической и химической инженерии и технологии» на «Биотехнология и Биоинженерия». Этот журнал публиковал работы по прикладной микробиологии и промышленной ферментации. С этого момента биотехнология оказалась связанной с исследованиями в области «промышленного производства товаров и услуг при участии живых организмов, биологических систем и процессов». Именно эти представления и начали вкладываться в термин «биотехнология».

Биотехнология – это совокупность промышленных методов, в которых используют живые организмы и биологические процессы для производства различных продуктов.

Биотехнология тесно связана с такими науками как молекулярная биология, микробиология, ветеринария, генетика, инженерные технологии, биохимия, физиология растений, микробиология, геновая инженерия.

Цель биотехнологии – дать будущему специалисту представление о современном состоянии и перспективах развития биотехнологии при использовании биообъектов и биомолекул в промышленном производстве, сельском хозяйстве, здравоохранении и окружающей среде.

Задачи биотехнологии:

- Стимулирование обмена веществ клеток для производства запланированных продуктов при одновременном подавлении других реакций метаболизма.
- Получение клеток или их составных частей, которые способны к направленному изменению других сложных биоструктур.
- Создание рекомбинантных ДНК, которые способны кодировать биосинтез особо ценных соединений.
- Создание безотходных и экологически безопасных биотехнологических процессов.
- Совершенствование аппаратного оформления биотехнологических процессов с целью получения максимального выхода продукции.
- Повышение технико-экономических показателей биотехнологических процессов по сравнению с существующими.

Предмет биотехнологии: углубленное изучение, в т.ч. и на молекулярном уровне, биообъектов; улучшение аппаратного оформления биотехнологических процессов; изучение взаимосвязей биообъектов и оборудования для повышения их совместимости.

1.2. Этапы истории развития биотехнологии

В развитии биотехнологии как науки выделяют 4 периода.

Эмпирический период (от греч. *empeiria* – опыт; основанный на опыте). Насчитывает около 8 тыс. лет. Тогда люди еще ничего не знали о микроорганизмах. Они интуитивно использовали биотехнологические процессы для получения хлеба, пива, спирта, уксуса, кисломолочных продуктов, силосования кормов, выделки кожи и т.д.

Этиологический период (от греч. *aitia* – причина, *logos* – учение) (1856-1933 гг.). Связан с именем французского ученого Л. Пастера, который открыл микробную природу брожения, предложил оригинальный метод стерилизации – пастеризацию, создал научные основы вакцинопрофилактики и вакцинотерапии. В это время развивается учение о грибах (микология); создаются питательные среды для культивирования различных биообъектов; разрабатываются методы стерилизации питательных сред; созданы простые установки для очистки сточных вод и др.

1814 г. Русский академик К.С. Кирхгоф впервые получил жидкий ферментный препарат амилазы из проросшего ячменя и описал ферментативный процесс.

1857 г. Французский ученый Луи Пастер установил, что микробы играют ключевую роль в процессах брожения, и показал, что в образовании отдельных продуктов участвуют разные виды микроорганизмов. Его исследования послужили основой развития бродильного производства органических растворителей (ацетона, бутанола, этилового спирта и др.).

1875 г. Немецкий микробиолог Роберт Кох разработал метод получения чистых культур микроорганизмов, который гарантировал содержание в посевном материале клетки только определенного вида.

1893 г. Немецкий ученый К. Вемер установил способность плесневых грибов синтезировать лимонную кислоту.

1894 г. Японский ученый И. Такамина создал первый ферментный препарат, который получил из плесневого гриба, выращенного на влажном рисе.

1923 г. Организовано первое микробиологическое промышленное производство лимонной кислоты, а затем молочной, глюконовой и других органических кислот.

1925 г. Русские ученые Г.А. Надсон и Г.С. Филиппович установили возможность искусственного мутагенеза микроорганизмов (грибов) под влиянием рентгеновского облучения.

В 30-е годы в СССР было организовано производство микробиологическим способом технических препаратов ферментов и витаминов (рибофлавина В2, эргостерина – провитамин D2).

Биотехнический период (1934-1971 гг.). В этот период внедряется крупномасштабное герметизированное оборудование для проведения процессов в стерильных условиях; развивается производство антибиотиков; выделен нуклеопротеин (ДНП); разработана кинетика ферментативных реакций; выяснены условия, необходимые для культивирования клеток растений, животных и человека; открыт цикл лимонной кислоты и др.

В военные годы (1941 - 1945 гг.) возросла потребность в дрожжах как источнике белковых веществ. Изучалась способность дрожжей накапливать белоксодержащую биомассу на непищевом сырье (древесные опилки, гороховая и овсяная шелуха). Так, в блокадном Ленинграде, Москве были созданы установки, на которых производили пищевые дрожжи. В военной Германии биомассу дрожжей добавляли в колбасу и супы.

1948 г. Советский биохимик В.Н. Букин с помощью микроорганизмов получил ви-

тамин В12, который не способны синтезировать ни растения, ни животные.

Геннотехнический период (с 1972 г.). В этот период создана рекомбинантная молекула ДНК, генно-инженерный инсулин; развивается хромосомная и клеточная инженерия; внедряются автоматизация и компьютеризация; развиваются новые направления (медицинская биотехнология, иммунобиотехнология, биогеотехнология, инженерная энзимология).

1972 г. Американский биохимик П. Берг разработал технологию клонирования ДНК.

1975 г. С возникновением генной инженерии появилась возможность направленно создавать для промышленности микроорганизмы с заданными свойствами.

1.3. Преимущества биотехнологических процессов

По сравнению с химической технологией биотехнология имеет ряд преимуществ:

- Биотехнологическим путем можно получить специфичные и уникальные природные вещества, часть из которых (например, белки, ДНК) еще не удается получать путем химического синтеза.
- Биотехнологические процессы можно вести при относительно невысоких температурах и давлении.
- Микроорганизмы имеют значительно более высокие скорости роста и накопления клеточной массы, чем другие организмы. Так, с помощью микроорганизмов в ферментере объемом 300 м³ за сутки можно выработать 1 т белка (365 т/год). Чтобы такое же количество белка в год выработать с помощью крупного рогатого скота, нужно иметь стадо численностью 30 000 голов. Если же использовать для получения такой скорости производства белка бобовые растения, например, горох, то потребуются иметь поле гороха площадью 5400 га.
- В качестве сырья можно использовать дешевые отходы сельского хозяйства и промышленности.
- Биотехнологические процессы обычно более экологичны, имеют меньше вредных отходов, близки к протекающим в природе естественным процессам.
- Технология и аппаратура более просты и дешевы.

Вопросы для самоконтроля

- 1) Дайте определение термину «биотехнология».
- 2) История возникновения термина «биотехнология».
- 3) Цель биотехнологии как науки.
- 4) Задачи биотехнологии.
- 5) Предмет биотехнологии.
- 6) Эмпирический период развития биотехнологии как науки.
- 7) Какие открытия были сделаны в этиологический период развития биотехнологии как науки?
- 8) Биотехнический период развития биотехнологии как науки.
- 9) Геннотехнический период развития биотехнологии как науки.
- 10) Перечислите преимущества биотехнологий по сравнению с химическими технологиями.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. *Бирюков, В.В.* Основы промышленной биотехнологии / В.В. Бирюков. – М.: КолосС, 2004. – 296 с. – ISBN 5-9532-0231-8 («КолосС»); ISBN 5-98109-008-1 (АНО «Химия»)
2. *Блинов, В.А.* Общая биотехнология: курс лекций. В 2-х частях. Ч. 1 / В.А. Блинов. – Саратов, 2003.
3. *Клунова, С.М.* Биотехнология: учебник / С.М. Клунова, Т.А. Егорова, Е.А. Живухина. – М.: Академия, 2010. – 256 с. – ISBN 978-5-7695-6697-4

Дополнительная

1. Биотехнология: учебное пособие для вузов, в 8 кн., под ред. Егорова Н.С., Самуилова В.Д. – М., 1987.
2. *Елинов, Н.П.* Основы биотехнологии / Н.П. Елинов. – СПб.: Наука, 1995. – ISBN 5-02-026027-4
3. *Пшеничникова, А.Б.* Основы биотехнологии: учебное пособие / А.Б. Пшеничникова. – М.: МИТХТ им. М.В. Ломоносова, 2010. – 92 с.
4. <http://www.biotechnolog.ru>

ОСНОВНЫЕ ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ БИОТЕХНОЛОГИИ

2.1. Классификация живых организмов

Все живые существа на Земле представлены 3 надцарствами. В основу этой классификации положена морфологическая организация генетической системы: безъядерные (акариоты) – вирусы и вириды; предъядерные (прокариоты) – бактерии и сине-зеленые водоросли (цианобактерии); ядерные (эукариоты) – царства грибы, растения, животные.

Объекты биотехнологии: вирусы; бактерии; грибы (микро- и макромицеты); простейшие; клетки и ткани растений, животных и человека, а также некоторые биогенные и функционально сходные с ними вещества (ферменты, простагландины, лектины и др.). В настоящее время основным объектом биотехнологии являются прокариоты (таблица 2.1).

Таблица 2.1

Микроорганизмы, используемые в промышленности для получения целевых продуктов

| Организм | Тип | Продукт |
|--|----------|---|
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | Дрожжи | Пекарские дрожжи, вино, эль, саке |
| <i>Streptococcus thermophilus</i> | Бактерии | Йогурт |
| <i>Propionibacterium shermanii</i> | Бактерии | Швейцарский сыр |
| <i>Gluconobacterium suboxidans</i> | Бактерии | Уксус |
| <i>Penicillium roquefortii</i> | Плесень | Сыры типа рокфора |
| <i>Aspergillus oryzae</i> | Плесень | Саке |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | Дрожжи | Этанол |
| <i>Clostridium acetobutylicum</i> | Бактерии | Ацетон |
| <i>Xanthomonas campestris</i> | Бактерии | Полисахариды |
| <i>Corynebacterium glutamicum</i> | Бактерии | L-Лизин |
| <i>Candida utilis</i> | Дрожжи | Микробный белок |
| <i>Propionibacterium</i> | Бактерии | Витамин В ₁₂ |
| <i>Aspergillus oryzae</i> | Плесень | Амилаза |
| <i>Kluyveromyces fragilis</i> | Дрожжи | Лактаза |
| <i>Saccharomycopsis lipolytica</i> | Дрожжи | Липаза |
| <i>Bacillus</i> | Бактерии | Протеазы |
| <i>Endothia parasitica</i> | Плесень | Сычужный фермент |
| <i>Leocanostoc mesenteroides</i> | Бактерии | Декстран |
| <i>Xanthomonas campestris</i> | Бактерии | Ксантан |
| <i>Penicillium chrysogenum</i> | Плесень | Пенициллины |
| <i>Chehalosporium acremonium</i> | Плесень | Цефалоспорины |
| <i>Rhizopus nigricans</i> | Плесень | Трансформация стероидов |
| Гибридомы | – | Иммуноглобулины и моноклональные антитела |
| Клеточные линии млекопитающих | – | Интерферон |
| <i>E. coli</i> (рекомбинантные штаммы) | Бактерии | Инсулин, гормон роста, интерферон |
| <i>Blakeslea trispora</i> | Плесень | β-Каратин |
| <i>Phaffia rhodozyma</i> | Дрожжи | Астаксантин |
| <i>Bacillus thuringiensis</i> | Бактерии | Биоинсектициды |
| <i>Bacillus popilliae</i> | Бактерии | Биоинсектициды |

2.2. Вирусы

Вирусы – бесклеточные частицы размером несколько нм и видны только под электронным микроскопом. Они являются паразитами и могут размножаться только в клетках других организмов.

Вне клеток вирусы существуют в виде вирионов. Вирион представляет собой комплекс нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК) с белком.

Белковые молекулы, которые окружают РНК или ДНК, создают оболочку вируса (капсид).

По типу нуклеиновой кислоты вирусы делятся на: РНК-содержащие – вирусы растений, вирусы, вызывающие грипп, бешенство, СПИД и др.; ДНК-содержащие – вирусы герпеса, оспы и др.

Наряду с типичными вирусами, открыты вироиды. Они представляют собой частицы, которые состоят из низкомолекулярных РНК (240 - 400 нуклеотидов), и не содержат капсиды.

2.3. Бактерии

Бактерии – это безъядерные, как правило, одноклеточные организмы, размером 0,2 - 10,0 мкм, имеют определенную форму (палочки, кокки, спиралевидные формы). Внутреннее содержимое бактериальной клетки (цитоплазма) изолировано от внешней среды клеточной оболочкой, которая состоит из тонкой мембраны и стенки. Клеточная стенка имеет сложное строение и придает бактериальной клетке определенную форму. Исключение составляют микоплазмы, у которых нет клеточной стенки и, соответственно, определенной формы. Бактериальные клетки, лишенные клеточной стенки называются протопластами. Протопласты используются в клеточно-инженерных исследованиях.

Для бактерий характерны разнообразные условия обитания, приспособляемость, способы питания и биоэнергетического обмена, отношение к макроорганизмам (животным и растениям).

Из биомассы бактерий получают различные органические вещества, в частности, аминокислоты, разнообразные белковые вещества, в том числе ферменты. Бактерии являются удобным объектом для генетических исследований, так как быстро размножаются и содержат плазмидную ДНК, способную включать в свой состав чужеродные фрагменты.

В научно-исследовательских и промышленных целях используют генетически модифицированные и иммобилизованные на носителях клетки бактерий. Наиболее изученной и широко применяемой в генноинженерных исследованиях клеткой является кишечная палочка, которая обитает в толстом кишечнике человека (*Escherichia coli*, *E. coli*).

2.4. Грибы

Грибы насчитывают десятки тысяч видов. Они имеют клеточное ядро. Сочетают в себе черты клеток растений (прочная клеточная стенка) и животных (нуждаются в некоторых витаминах и способны синтезировать свойственные животным полисахариды: хитин и гликоген).

Наибольший интерес для биотехнологии представляют микроскопические грибы

(дрожжи, плесневые и другие микроорганизмы. Их применяют в хлебопечении, пивоварении и в молочной промышленности, для получения спиртов, органических кислот, антибиотиков, различных биологически активных веществ и кормового белка.

2.5. Клетки растений и животных

Растения насчитывают около 500 000 видов. Они состоят из ядерных клеток, которые имеют сложное строение и выполняют различные специализированные функции. К ним относятся водные организмы водоросли и высшие растения, которые обитают преимущественно на суше.

Водоросли отличаются от высших растений тем, что не имеют органов и тканей, а представляют собой слоевища, которые состоят из недифференцированных (одинаковых) клеток. Они обладают способностью к фотосинтезу, богаты углеводами и пигментами.

Один из видов водорослей – морская капуста – используется в пищу. Из водорослей добывают агар-агар и альгинаты. Это полисахариды, которые используют для изготовления питательных сред для культивирования микроорганизмов и в пищевой промышленности.

Высшие растения – многоклеточные организмы, которые имеют специализированные органы (корни, стебли, листья). Они состоят из тканей, которые образованы дифференцированными клетками. Ткани различаются химическим составом, строением и выполняют различные функции (механические, покровные, выделительные, проводящие и др.).

Особое значение для биотехнологии имеет одна из тканей растений, называемая меристемой. Клетки меристемы способны к делению, благодаря чему осуществляется рост, а также образование тканей и органов растений. Они не утрачивают способности делиться и после удаления из растения. При выращивании на специальных питательных средах меристемные клетки дают массу делящихся клеток – каллус, который можно длительно культивировать, получать из него новые растения или использовать для извлечения нужных веществ (биостимуляторы из женьшеня, противораковое средство таксол из коры тиса и др.).

Самостоятельную группу организмов составляют **лишайники**, которые представляют собой симбиоз (сожительство) грибов с водорослями или с цианобактериями. Они являются перспективными источниками ряда биологически активных веществ.

Животные бывают простейшими – одноклеточными и высшими – многоклеточными. Они состоят из ядерных клеток.

Среди **простейших** имеются паразиты и возбудители болезней высших животных и человека. Некоторые простейшие выращиваются и используются для целей биоиндикации, в токсикологических исследованиях и для получения отдельных веществ.

Ткани высших животных являются источниками полноценного белка, липидных веществ и некоторых витаминов, необходимых для питания человека. Из органов и крови животных получают различные белковые препараты (альбумин, иммуноглобулины, ферменты), некоторые гормоны и другие биологически активные вещества.

Однако сырье животного происхождения является дорогим, а выход конечных продуктов недостаточно высок. Поэтому чаще используют культуры клеток животных или человека, которые выращивают на искусственных средах (получение интерферона, моноклональных антител).

Перспективный и экономичный способ производства биологически активных ве-

ществ – генная инженерия. При этом ген животного внедряют в клетку бактерии, которая начинает синтезировать нужное вещество. Так получают человеческий инсулин – гормон белковой природы.

2.5 Методы биотехнологии

1) **Общие** – методы органической, физической, коллоидной или биологической химии, микробиологии, цитологии, физиологии и других дисциплин (определение окислительно-восстановительного потенциала, электропроводности, рН, концентрации кислорода, диоксида углерода, аммиака, аминокислот и органических кислот, глюкозы, активности ферментов и многих других параметров).

2) **Специальные** – крупномасштабное глубинное культивирование биообъектов в периодическом, полунепрерывном или непрерывном режиме.

3) **Специфические** – методы генетической и клеточной инженерии.

Генетическая инженерия – это методы получения рекомбинантных ДНК, которые объединяют последовательности нуклеотидов разного происхождения.

В генетической инженерии выделяют:

а) генная инженерия – целенаправленное изменение естественных генетических характеристик известных вирусов и клеток;

б) геномная инженерия – целенаправленная глубокая перестройка генома акариот, прокариот и эукариот, в т.ч. вплоть до создания новых видов;

в) хромосомная инженерия – перенос изолированных хромосом от клетки-донора одного организма в клетку-реципиент другого организма.

Клеточная инженерия – это создание ранее неизвестных клеточных систем с новыми свойствами на основе клеточных взаимодействий.

Вопросы для самоконтроля

- 1) Какие надцарства живых организмов Вам известны?
- 2) Перечислите объекты биотехнологии.
- 3) Приведите примеры промышленного использования дрожжей для получения целевых продуктов.
- 4) Приведите примеры промышленного использования бактерий для получения целевых продуктов.
- 5) Приведите примеры промышленного использования плесеней для получения целевых продуктов.
- 6) Вирусы как объекты биотехнологии.
- 7) Бактерии как объекты биотехнологии.
- 8) Грибы как объекты биотехнологии.
- 9) Водоросли и лишайники как объекты биотехнологии.
- 10) Ткани и клетки высших растений как объекты биотехнологии.
- 11) Ткани и клетки высших животных как объекты биотехнологии.
- 12) Общие методы биотехнологии.
- 13) Специальные методы биотехнологии.
- 14) Методы генетической инженерии.
- 15) Клеточная инженерия как метод биотехнологии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. *Бирюков, В.В.* Основы промышленной биотехнологии / В.В. Бирюков. – М.: КолосС, 2004. – 296 с. – ISBN 5-9532-0231-8 («КолосС»); ISBN 5-98109-008-1 (АНО «Химия»)
2. *Блинов, В.А.* Общая биотехнология: курс лекций. В 2-х частях. Ч. 1 / В.А. Блинов. – Саратов, 2003.
3. *Елинов, Н.П.* Основы биотехнологии / Н.П. Елинов. – СПб.: Наука, 1995. – ISBN 5-02-026027-4
4. *Никитина Е.В.* Микробиология: учебник/ Е.В. Никитина, С.Н. Киямова, О.А. Решетник. – СПб.: ГИОРД, 2009. – 368 с. – ISBN 978-5-98879-075-4

Дополнительная

1. Биотехнология: учебное пособие для вузов, в 8 кн., под ред. Егорова Н.С., Самуилова В.Д. – М., 1987.
2. *Клунова, С.М.* Биотехнология: учебник / С.М. Клунова, Т.А. Егорова, Е.А. Живухина. – М.: Академия, 2010. – 256 с. – ISBN 978-5-7695-6697-4
3. *Пшеничникова, А.Б.* Основы биотехнологии: учебное пособие / А.Б. Пшеничникова. – М.: МИТХТ им. М.В. Ломоносова, 2010. – 92 с.
4. <http://www.biotechnolog.ru>

ЗНАЧЕНИЕ BIOTEХНОЛОГИИ ДЛЯ РАЗЛИЧНЫХ ОБЛАСТЕЙ НАРОДНОГО ХОЗЯЙСТВА

3.1. Биотехнология в животноводстве и ветеринарии

Недостаток кормового белка можно восполнить биотехнологическим путем. Так, продуцентами кормового белка могут быть бактерии, дрожжи, микроскопические водоросли, микро- и макромицеты, которые можно выращивать на различных отходах.

Один из способов сохранения скошенной травы и увеличения ее питательной ценности – силосование. При этом растительную массу уплотняют в специальных силосных ямах и вводят в нее специальные закваски (смесь микроорганизмов). Это позволяет в зимнее время скармливать животным растительный корм даже более ценный, чем исходный.

Биотехнологическим путем производят кормовые витамины (А, D, В₂, В₁₂, С и др.), ростовые гормоны белковой природы.

Пробиотики – это биологические препараты, которые представляют собой культуры симбионтных микроорганизмов или продукты их ферментации, которые способствуют росту последних, подавляют рост патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, нормализуют пищеварение, обладают антитоксическим и антиаллергическим действием и др.

Вакцины – это препараты, которые получают на основе ослабленных, инактивированных или дезинтегрированных возбудителей болезней. Применяются для иммунизации животных с профилактической и лечебной целями.

Антибиотики – это препараты, которые применяют для профилактики и лечения инфекционных заболеваний. Они вырабатываются микроорганизмами и способны тормозить рост и вызывать гибель бактерий и других микробов. В качестве кормовых используют антибиотики, которые ранее были медицинскими.

Разработан корм из оранжево-красных микроорганизмов рода *Phaffia*, который позволяет получать оранжевый или розовый цвет мяса лосося и форели при их искусственном разведении. Это связано с тем, что *Phaffia* синтезирует каротиноид астаксантин насыщенного красного цвета.

3.2. Биотехнология в растениеводстве

Выпускают специальные антибиотики для растений, которые позволяют «лечить» различные виды заболеваний растений. Биотехнологическими методами получают ростовые вещества для растений (гибберелины).

Вакцин для растений не существует. Однако разработаны оригинальные способы борьбы с насекомыми-вредителями растений (энтомопатогенные препараты; от греч. *entoma* – насекомые). При этом выращивают специальные микроорганизмы, которые заражают и убивают насекомых, но не вредят человеку, животным и самому растению.

Еще один способ борьбы с насекомыми – обработка участков поля феромонами (половыми аттрактантами насекомых; от лат. *attraho* – притягиваю к себе). Их получают микробиологическим путем с использованием химических стадий. Привлеченных феромонами насекомых собирают и уничтожают.

Бактериальные удобрения – препараты на основе микроорганизмов, которые способны потреблять азот из воздуха и переводить его в аммонийную и органическую форму.

Биотехнология предлагает метод создания безвирусной рассады. Например, изолированные клетки клубней картофеля размножают в суспензии. Затем выращенные клетки «пересаживают» в искусственный грунт и из каждой клетки вырастает «клубенок» размером не более горошины. Эти горошины высевают в поле как рассаду, из которой нормальным путем вырастает растение картофеля с множеством клубней.

3.3. Биотехнология в пищевой промышленности

Разные виды дрожжей применяются в технологии производства спирта, вина, пива, кваса, хлебобулочных изделий.

Различные микроорганизмы в виде заквасок применяют для получения кисломолочные продукты.

Биотехнологическим путем также получают пищевые подкислители: лимонная, яблочная, молочная и другие кислоты.

Микроорганизмами синтезируется глутаминовая кислота (глутамат), которая используется для усиления аромата мясных, рыбных, грибных изделий.

В пищевой промышленности используют витамины, получаемые биотехнологическим путем. Например, бета-каротин (провитамин А) применяют как пищевой краситель (оранжевого цвета).

Возможно получение пищевого белка из микроорганизмов. Так, пищевой продукт микопротеин получают на основе биомассы мицелиальных грибов рода *Fusarium*. Для вкуса и цвета в него вводят специальные пищевые добавки. Стало возможным культивировать мицелий высших съедобных грибов (вешенки, опят, маслят и др.) глубинным способом, т.е. в ферментере.

Для получения сырокопченых колбас в фарш вводят закваски на основе молочнокислых микроорганизмов, которые способствуют созреванию и приданию продукту специфического приятного вкуса.

Ферменты микробного происхождения находят широкое применение в пищевой промышленности. Так, целлюлаза применяется при приготовлении растворимого кофе, для улучшения консистенции грибов и овощей; глюкозооксидаза – для удаления кислорода из сухого молока, кофе, пива, майонезов, соков; протеаза – для размягчения мяса; бета-галактозидаза – для получения «безлактозного» молока; пектиназа – для осветления соков и др.

Микроорганизмы или изолированные клетки высших грибов используют для получения пищевых красителей ярко-желтого, красного, синего цвета. Такие красители безопасны в использовании для пищевых целей.

В качестве пищевых загустителей биотехнология предлагает использовать полисахариды микробного происхождения. Например, декстран – стабилизатор при производстве мороженого.

Пищевые консерванты – это вещества, которые добавляют в пищевые продукты для увеличения срока их хранения. Известны консерванты биотехнологического происхождения. Например, низин – выделяется специальными штаммами молочнокислых бактерий.

3.4. Экологическая биотехнология

В начале XX века предложен метод аэробной биологической очистки сточных вод с помощью активного ила. Активный ил – это смесь микроорганизмов, которые способны перерабатывать хозяйственно-бытовые, промышленные и другие загрязнения.

Аналогом аэробной очистки стоков является аэробное биокомпостирование твердых отходов. Это позволяет превратить отходы в удобрение или использовать их в качестве подсыпки для дорог, в строительстве и др.

В результате анаэробного сбраживания жидких концентрированных отходов получают газ, содержащий 65 % метана и 30 % диоксида углерода, который может быть использован для отопления. Сброженный осадок используют как удобрение.

Для очистки газовых выбросов применяют биофильтры, заполненные насадкой, на которой закреплены специальные микроорганизмы. При этом вредные примеси сорбируются на насадке, а затем потребляются и обезвреживаются микроорганизмами.

Разработаны биотехнологические способы восстановления загрязненных территорий при разливах нефти; методы деградации химических пестицидов и инсектицидов; методы снижения концентрации метана в шахтах; стиральные порошки с ферментами микробного происхождения (протеазами).

Определенные виды микроорганизмов способны осаждать на себе (сорбировать) тяжелые металлы из стоков (медь, никель, хром, свинец и др.). Такая биомасса является сырьем для получения цветных металлов.

Многие отходы сельскохозяйственного производства и пищевой промышленности можно перерабатывать в удобрение с помощью низших организмов – червей (вермикомпостирование).

3.5. Биотехнология в медицине

Биотехнологическим путем производят следующие медицинские препараты:

- *вакцины;*
- *антибиотики;*
- *витамины (В₂, В₁₂, D; в химическом производстве витамина С имеется одна биотехнологическая стадия);*
- *инсулин;*
- *гормон роста (соматотропный гормон);*
- *иммуномодуляторы;*
- *иммунодепрессанты;*
- *кровезаменители;*
- *медицинские ферменты (стрептокиназа – растворяет тромбы в кровеносных сосудах; протеаза – очистка гнойных очагов, лечение ожогов);*
- *коферменты – это вещества, которые усиливают деятельность собственных ферментов в организме человека. Многие витамины являются коферментами. Так, рибоксин (инозин) используют для лечения сердечно-сосудистых и других заболеваний;*
- *медицинские аминокислоты – используют вместо белкового питания или спортивной. Получают ферментативным расщеплением белка или каждую аминокислоту получают биосинтезом особым штаммом микроорганизмов;*
- *подсластители – получают на основе аминокислот. Например, аспартам в 160-200 раз слаще сахара;*

- *женьшень* – настойка из корня повышает тонус человека, снижает утомляемость и др. Биотехнология позволяет получить это лекарство путем культивирования изолированных клеток;
- *биоразлагаемые полимеры* (полигидроксибутират) – в хирургии из него формируют нити, штифты для соединения костей;
- *моноклональные антитела* – на их основе созданы диагностические препараты по определению беременности, предрасположенности к диабету, ревматоидному артриту, по установлению ряда наследственных заболеваний.
- *препараты против комаров* – созданы биопрепараты на основе микроорганизмов, которые патогенны для личинок комаров и безвредны для человека и других животных. Этими препаратами обрабатывают места размножения комаров (подвалы домов).
- *косметические токсины* – известны микроорганизмы, которые продуцируют ботулины – сильнодействующие яды паралитического действия. Их вводят в состав омолаживающих косметических средств.

3.6. Биотехнология и энергетика

Биотехнология позволяет получать источники энергии различными способами:

- *Получение биогаза из органических отходов путем метанового брожения.* Так, в Китае многие сельскохозяйственные фермы имеют установки для переработки отходов и навоза. Получаемый газ используют для отопления и приготовления пищи. Сырье для получения биогаза можно специально выращивать (зеленая масса быстрорастущих растений и деревьев, водоросли).
- *Получение водорода биофотоллизом воды.* Известны фототрофные бактерии, которые способны выделять водород под действием света. Ферменты этих бактерий наряду с водородом образуют и кислород, т.е. происходит биофотолиз воды. Пока это направление пока еще не дало практических результатов, но является весьма перспективным.
- *Биосинтез углеводов микроорганизмами.* Например, в США для получения жидких углеводов используют микроводоросль *Botriococcus braunii*, которая под действием света накапливает до 75% углеводов от сухой массы клеток.
- *Моторное топливо.* Так, в России разрабатывается технология биоконверсии древесины в этанол, в Бразилии – сахарного тростника, в США – кукурузы. В качестве моторного топлива предложена смесь бензина со с бензином, где спирт составляет около 10% (такая смесь называется *газохол*).

3.7. Другие приложения биотехнологии

Получение растворителей. Путем анаэробного ацетонобутилового сбраживания крахмалосодержащего сырья, мелассы, молочной сыворотки можно получить смесь растворителей (60% бутанола, 30% ацетона и 5-10% этанола), а также газы – водород и диоксид углерода. Бутанол используют при производстве пластмасс, а ацетон – как растворитель.

Органические кислоты технического назначения. Техническую уксусную кислоту используют для получения каучука, пластмасс, синтетических волокон и инсектицидов. Из молочной сыворотки получают молочную кислоту, которую используют при обработке кож, а также для получения биоразлагаемого полимера полилактата. Из сахаро-

содержащих отходов и парафинов нефти получают лимонную кислоту, которую используют в производстве пластмасс, для очистки металлов, в составе стиральных порошков.

Красители для тканей. Например, при культивировании клеток растения воробейника краснокорневого получают ярко-красный краситель *шиконин*.

Бактериальное выщелачивание металлов. Например, бактерия *Thiobacillus ferrooxidans* окисляет двухвалентное железо и восстанавливает двухвалентную серу. Это является основой перевода многих сульфидных минералов в раствор при бактериальном выщелачивании меди, цинка, урана, серебра.

Биоэлектроника. На основе ферментов разработаны датчики (биосенсоры) – приборы для измерения концентраций различных веществ в жидкостях и газах. Ведется создание так называемых биочипов – базового элемента для построения ЭВМ нового поколения.

Вопросы для самоконтроля

- 1) Какова роль биотехнологии в животноводстве и ветеринарии?
- 2) Какова роль биотехнология в растениеводстве?
- 3) Биотехнологические аспекты пищевой промышленности.
- 4) Какова роль биотехнологии в решении экологических проблем?
- 5) Использование биотехнологических разработок в медицине.
- 6) Роль биотехнологии в получении альтернативных источников энергии.
- 7) Приведите примеры других биотехнологических разработок.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Биотехнология: учебное пособие для вузов, в 8 кн., под ред. Егорова Н.С., Самуилова В.Д. – М., 1987.
2. *Бирюков, В.В.* Основы промышленной биотехнологии / В.В. Бирюков. – М.: КолосС, 2004. – 296 с. – ISBN 5-9532-0231-8 («КолосС»); ISBN 5-98109-008-1 (АНО «Химия»)
3. *Глик, Б.* Молекулярная биотехнология. Принципы и применение / Б. Глик, Дж. Пастернак. – М.: Мир, 2002. – 592 с. – ISBN: 5-03-003328-9
4. *Елинов, Н.П.* Основы биотехнологии / Н.П. Елинов. – СПб.: Наука, 1995. – ISBN 5-02-026027-4
5. *Клунова, С.М.* Биотехнология: учебник / С.М. Клунова, Т.А. Егорова, Е.А. Живухина. – М.: Академия, 2010. – 256 с. – ISBN 978-5-7695-6697-4
6. Общая и фармацевтическая биотехнология: учебное пособие. – Самара: НОУ ВПО СМИ «РЕАВИЗ», 2012. – 118 с.
7. *Пшеничникова, А.Б.* Основы биотехнологии: учебное пособие / А.Б. Пшеничникова. – М.: МИТХТ им. М.В. Ломоносова, 2010. – 92 с.
8. Сельскохозяйственная биотехнология / Шевелуха В.С. и др. – М.: Высшая школа, 2003. – 427 с. – ISBN: 5-06-004264-2

Дополнительная

1. Комплексная программа развития биотехнологий в Российской Федерации на период до 2020 года / утверждено председателем правительства Российской Федерации В. Путиным 24 апреля 2012 г. № 1853п-П8. – М., 2012. – 76 с.

2. Рабочие материалы к стратегии развития биотехнологической отрасли промышленности до 2020 года / Общество биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова. Союз предприятий биотехнологической отрасли. – М., 2009. – 85 с.

3. Тенденции развития промышленного применения биотехнологий в Российской Федерации / Институт биохимии им. Н.А. Баха РАН. – М., 2011. – 323 с.

4. Журналы: Биотехнология, Вестник СГАУ, Прикладная биохимия и микробиология, Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунологии, Фармацевтическая промышленность, Кондитерское и хлебопекарное производство, Масложировая промышленность, Молочная промышленность, Переработка молока, Мясные технологии, Сыроделие и маслоделие, Пиво и напитки, Пищевая технология.

5. <http://www.biotechnolog.ru>

6. Биотехнологический портал Bio-X (ссылка доступа - <http://bio-x.ru>)

7. Интернет-журнал «Коммерческая биотехнология» (ссылка доступа – <http://cbio.ru>)

8. On-line-журнал «Биотехнология. Теория и практика» (ссылка доступа – <http://www.biotechlink.org>)

СЫРЬЕВАЯ БАЗА БИОТЕХНОЛОГИИ

4.1. Классификация сырья и питательных субстратов

Основным компонентом питательной среды для культивирования микроорганизмов считается тот, который служит источником углерода и энергии. Такие компоненты называют субстратом, а все остальные – вспомогательными веществами.

Классификация питательных субстратов

- *Сахара* (глюкоза, сахароза, лактоза, ксилоза, крахмал, целлюлоза, ксилан). Сырьё – крахмал, сахарная свекла, молочная сыворотка, картофель, кукуруза, зерновые и другое растительное сырьё.

- *Спирты* (этанол, метанол). Сырьё – сахаристые субстраты, продукты гидролиза древесины, компоненты нефти и газа.

- *Углеводороды* (алканы). Сырьё – природный газ, нефть и газовый конденсат.

- *Азотсодержащие соединения* (сульфат аммония, фосфат аммония, аммиак, мочевины). Получают из минеральных источников сырья.

- *Субстраты неопределённого состава* (меласса, солод, гидролизаты древесины, смолы, растительные масла, животные жиры, дрожжевой экстракт, соевая мука). Сырьё – побочные продукты производства сахара, ячмень, древесина, травяная масса, растительное и животное сырьё, дрожжи, соевые бобы.

Классификация сырья

- *дорогое, пищевое* – мука кукурузная, соевая, пшеничная; крахмал, пищевой сахар, глюкоза, лактоза, растительные масла;

- *отходы пищевой промышленности* – меласса, зелёная патока, молочная сыворотка, рыбно-костная мука, гидролизаты кукурузных кочерыжек, соломы, подсолнечной лузги. Они более дешёвые;

- *специально получаемое сырьё* – гидролизаты древесины и торфа, парафины нефти, метан, этанол и др.

4.2. Источники углеродного питания

Углеводные источники углерода

Легкодоступными источниками углерода считаются *сахара*: глюкоза, сахароза, лактоза; Далее следуют *полисахариды*: целлюлоза, гемицеллюлоза, крахмал, которые могут быть источниками углерода либо после превращения их в усвояемые микроорганизмами моно- и низкомолекулярные олигосахариды, либо микроорганизмы должны иметь набор ферментов, гидролизующих эти вещества. Такими микроорганизмами являются плесневые грибы родов *Aspergillus*, *Penicillium*, бактерии рода *Bacillus* и другие.

Неуглеводные источники углерода

Углеводороды жидкие – используются в производстве кормовых дрожжей, лимонной кислоты, биопрепаратов – деструкторов нефти.

Углеводородные газы – метан, этан, пропан, бутан – применялись для получения кормового белка и некоторых продуктов переработки биомассы (в том числе феромо-

нов).

Низкомолекулярные спирты: метанол и этанол – относятся к числу перспективных видов сырья. Многие дрожжи родов *Candida*, *Hansenula* и др. способны ассимилировать этанол. Дрожжи родов *Pichia*, *Candida* и другие, бактерии рода *Flavobacterium* используют в качестве единственного источника углерода метанол. Этанол используется для выращивания кормовых дрожжей, производства уксусной кислоты и многих других биопродуктов. Метиловый спирт подходит для культивирования многих видов микроорганизмов.

Уксусная кислота (синтетическая) иногда используется как источник углерода при получении аминокислот микробиологическим синтезом.

Жиры и масла изначально применяли как средство для предотвращения пенообразования в процессах ферментации. Среди растительных масел в процессах ферментации применяют подсолнечное, соевое, арахисовое, льняное, рапсовое, касторовое, кокосовое масла, иногда даже масло бобов какао.

4.3. Источники азотного питания

Биообъекты могут утилизировать как органические, так и неорганические азотсодержащие субстраты.

Многие микроорганизмы способны утилизировать источники неорганического азота: сульфат аммония (чаще всего); нитрат аммония; карбамид; аммиачная вода (используемая одновременно как источник азотного питания и как титрант для поддержания заданной величины pH).

Часто для процессов ферментации в состав среды требуется включать источники органического азота, действующим началом которых являются аминокислоты и белки.

Сырьем при этом могут быть различные натуральные продукты растительного и животного происхождения. Рассмотрим наиболее распространенные из этих продуктов.

Кукурузный экстракт – отход крахмало-паточного производства, получающийся путем упаривания жидкости от замачивания («настоя») кукурузных зерен («замочная жидкость») с содержанием сухих веществ не ниже 48 %. Экстракт содержит 6,4 - 8 % общего азота, не более 24 % золы. В золу входят фосфор, калий, магний. Имеются также витамины группы В (биотин), ростовые вещества и биостимуляторы. Кукурузный экстракт используется при биосинтезе пенициллина.

Соевая мука получается при размалывании соевого зерна, а также соевого жмыха и шрота, образующихся после извлечения соевого масла. В соевой муке содержится до 45 % протеина и 32 % углеводов, так что ее можно использовать и как источник углерода. В состав ее золы (4,5 - 6,5 %) входит калий, кальций и магний, а также довольно много фосфора.

Мука семян хлопка содержит 41 % протеина и до 29 % углеводов. На ее основе путем определенной переработки готовится среда с фирменным названием «Фармамедиа», имеющая до 59 % белков и 24 % углеводов. Эта среда используется для получения многих антибиотиков.

Мука семян льна содержит 36 % протеинов и 38 % углеводов; *арахисовая мука* содержит 45 % протеина, 5 % жира и 23 % углеводов; *рыбная мука* содержит до 65 % белков и в некоторых случаях используется в качестве компонента сред; *кровяная мука* содержит до 80 % белка, *мясокостная мука* содержит до 50 % белков.

Сухое молоко обезжиренное содержит лишь 34 % белка. Тем не менее молочные белки (казеин, сывороточные белки) в виде гидролизатов часто используются как компоненты питательных сред.

Продукты переработки животного сырья – желатин, белкозин – также содержат органический азот, приемлемый для использования в качестве компонента сред.

Дрожжевые автолизаты, ферментализаты, гидролизаты в высушенном виде содержат до 52 % органического азота, в основном в виде смеси аминокислот.

Мясной и рыбный пептоны используются для лабораторных питательных сред.

Так, дрожжи хорошо усваивают аммиачные соли (сульфат аммония, фосфат аммония), а также аммиак, мочевины. Некоторые грибы, вырабатывающие целлюлолитические ферменты, наиболее активны при добавлении в питательную среду органического азота (аспарагин, пептон и др.). Известно, что бактерии более требовательны к источникам азота, чем другие микроорганизмы (грибы, актиномицеты и дрожжи).

4.4. Другие виды сырья

Источники фосфорного питания. Упомянутые ранее источники органического азота (например, кукурузный экстракт, соевая мука) являются одновременно и источниками фосфора. Неорганические источники также содержат азот. Это – аммофос (смесь моно-, ди- и триаммонийфосфата), отдельно МАФ (моноаммонийфосфат) и ДАФ (диаммонийфосфат). Иногда применяют ортофосфорную кислоту, но обычно это наиболее дорогой источник фосфорного питания.

Побочные продукты производства

Свекловичная меласса – отход производства сахара из свеклы, богата органическими и минеральными веществами, необходимыми для развития микроорганизмов. Она содержит 45 - 60 % сахарозы, 0,25 - 2,0 % инвертного сахара, 0,2 - 3,0 % рафинозы, аминокислоты, органические кислоты и их соли, бетаин, минеральные вещества, а также некоторые витамины. Используется для промышленного производства лимонной кислоты, этанола и других продуктов.

Меласная барда – отход меласно-спиртового производства; является полноценным сырьем для производства кормовых дрожжей, не требующим добавок ростовых веществ, так как содержит достаточное количество витаминов.

Зерно-картофельная барда – отход спиртового производства. Содержание растворимых сухих веществ обычно составляет 2,5-3,0 %, в том числе 0,2-0,5 % редуцирующих веществ, имеются источники азота и микроэлементы. Применяется для получения микробного белка.

Отходы пивоварения (пивная дробина и солодовые ростки). Так, для производства кормовых дрожжей это сырье соответствующим образом гидролизуют и вводят в питательную среду в соотношении 8 : 0,2 : 0,05 (дробина : ростки : отходы ячменя).

Пшеничные отруби – отход мукомольного производства, используется для приготовления питательных сред при твердофазном способе культивирования. Имеют богатый химический состав и могут использоваться в качестве единственного компонента питательной среды. Так как пшеничные отруби являются дорогим продуктом, их смешивают с более дешевыми компонентами: древесными опилками, солодовыми ростками, фруктовыми выжимками и т.д.

Молочная сыворотка – отход производства сыров, творога и казеина. Сухой остаток

молочной сыворотки содержит 70 - 80 % лактозы, 7 - 15 % белковых веществ, 2 - 8 % жира, 8 - 10 % минеральных солей, а также значительное количество гормонов, органических кислот, витаминов и микроэлементов. Так, из одной тонны молочной сыворотки можно получить около 20 кг воздушно-сухой биомассы дрожжей.

Свекловичный жом – отход сахарного производства, содержит пектины и целлюлозу (до 22 %) и до 65 % «безэкстрактивных веществ», до 9 % белков.

Гидролизаты древесины. В результате высокотемпературного кислотного гидролиза древесина превращается в гидролизаты. При этом целлюлоза и пентозаны гидролизуются до глюкозы и других сахаров. Содержание сахаров зависит от породы древесины и технологии гидролиза и составляет 4 - 8 %. Кроме древесины можно использовать и другие целлюлозосодержащие сельскохозяйственные отходы (солому, кукурузные кофры, стебли хлопчатника и т.п.).

Сульфитные щелока – отход целлюлозно-бумажного производства, продукт гидролиза лигнина и гемицеллюлозы, содержит сбраживаемые сахара (до 3,5 %).

Отходы спиртового производства (картофельная или зерновая барда) – содержат от 2,0 до 2,9 % редуцирующих веществ).

Гидролизаты торфа – получают после кислотного гидролиза торфа, который содержит полисахариды до 50 % от их содержания в древесине. Упаренный гидролизат содержит 25 - 30 % редуцирующих веществ, а также азот и фосфор в доступной для микроорганизмов форме.

Сок растений (коричневый сок) содержит до 2 % сахаров.

Картофельный сок – содержит до 1 % углеводов (крахмала).

Каждое сырьё имеет свои особенности:

- соевая мука вызывает вспенивание среды;
- жиры и сахара следует стерилизовать отдельно;
- кукурузный экстракт нужно кипятить с мелом для нейтрализации аминокислот и органических кислот;
- при изготовлении кровезаменителей нужно применять бидистиллированную воду.

4.5. Принципы составления рецептур питательных сред

Для составления рецептур все компоненты должны быть взяты в соотношениях, пропорциональных физиологическим потребностям микроорганизмов и с учетом предполагаемого урожая биомассы.

Питательные среды могут иметь неопределенный состав, то есть включать биогенные (растительные, животные, микробные) добавки – мясной экстракт, кукурузную муку, морские водоросли и т.д. Применяют также среды, приготовленные из чистых химических соединений в заранее определенных соотношениях – синтетические среды.

В состав практически любой питательной среды входят такие компоненты, как вода, соединения углерода, азота, фосфора и других минеральных веществ, витамины.

В питательные среды также вводят ингредиенты, которые положительно влияют на процесс ферментации (белки, аминокислоты, органические кислоты, минеральные вещества и др.).

Важными компонентами среды являются примерно 10 макроэлементов (фосфор, кальций, магний, калий и др.). В питательной среде должны быть микроэлементы (цинк, марганец, молибден, селен, медь, железо и др.). Потребность в микроэлементах

возникает тогда, когда его содержит целевой продукт. Так, при биосинтезе витамина В₁₂ в состав питательной среды включают кобальт.

Кислород плохо растворим в среде. Его запасы в среде обеспечивают жизнедеятельность аэробного продуцента в течение 0,5-2 мин. Так, для аэробных микроорганизмов, которые растут в сахаросодержащих субстратах, лимит дыхания клеток наступает при концентрации кислорода 0,05-0,10 мг/л или 3-8 % от полного насыщения среды кислородом.

По мере увеличения плотности культуры содержание растворённого кислорода в культуральной жидкости падает. При уменьшении концентрации кислорода в питательной среде экспоненциальный рост задерживается, и культура медленно переходит в стационарную фазу.

Решить эту проблему простым продуванием кислорода или воздуха через среду нельзя. Для решения этой проблемы в *E. coli* ввели ген, ответственный за синтез гемоглобиноподобного вещества. В результате этого увеличивается количество кислорода в клетке и среде, возрастает эффективность протонных насосов, увеличивается количество АТФ и т.д.

Вода для приготовления питательных сред должна быть чистой, бесцветной, без привкуса, запаха и осадка. В ней должно содержаться не более (в мг/л): хлоридов – 50, сульфатов – 60; свинца – 0,2; мышьяка – 0,05; фтора – 1,5; цинка – 5,0; меди – 3,0.

Микроорганизмам необходимы витамины, аминокислоты, цитокинины и другие БАВ. Поэтому в рецептуру сред вводят кукурузный экстракт, дрожжевой автолизат, дрожжевой экстракт, гидролизат дрожжей, клеточный сок картофельных клубней, молочную сыворотку, экстракт пшеничных отрубей, экстракт солодовых ростков, мясной или рыбный пептоны. При культивировании животных клеток – экстракт плаценты и плазму крови животных. При выращивании клеток растений или мицелия высших грибов – экстракты тыквы, листьев хлопчатника, отвар слив и др.

Так, концентрация метанола выше 1% или этанола выше 1,5-2,0% токсичны для микроорганизмов. Рост дрожжей подавляется при концентрации серебра – 10^{-6} %, меди – 10^{-3} %. Глюкоза, сахароза, фруктоза в концентрациях более 7-8% тормозят рост большинства микроорганизмов, и должны вноситься по мере их ассимиляции.

Количество необходимых азотосодержащих веществ определяют по содержанию азота в биомассе и предполагаемого ее урожая, при этом следует учитывать, что около 5% азота остается не использованным.

В среды для выращивания клеток растений и животных вводят специфические стимуляторы роста. Для клеток растений – индолуксусная кислота, кинетин и гиббереллиновая кислота. Для клеток животных – незаменимые аминокислоты и ростовые вещества (инсулин, глюкагон, гидрокортизон, прогестерон и др.).

4.6. Оптимизация ферментационных сред

Задача специалиста, оптимизирующего состав среды для конкретного вида микроорганизма, - выбрать такие источники углерода, азота, фосфора и других веществ, которые наиболее оправданы в экономическом и экологическом отношении.

Обычно оптимизация процесса культивирования начинается с выбора питательной среды, обеспечивающей питательные потребности популяции микробов или синтез максимального количества продуктов метаболизма.

Количество компонентов, входящих в питательную среду для выращивания микроорганизмов, может превышать десяток элементов. На рост микроорганизмов влияет также взаимное соотношение компонентов.

Высоко объективным является метод балансировки состава питательной среды, в основу которого заложено использование уравнения ассимиляции микробной популяции, где учитываются такие показатели, как: концентрация потребляемого субстрата; время потребления; концентрация биомассы; коэффициент метаболизма; константы скорости образования и отмирания микроорганизмов; концентрация субстрата в начальный момент культивирования.

Вопросы для самоконтроля

- 1) Что называют основными и вспомогательными компонентами питательных среды для культивирования микроорганизмов?
- 2) Какие группы питательных субстратов выделяют?
- 3) Классификация сырья для микробиологического синтеза.
- 4) Что может служить углеводными источниками углерода при культивировании микроорганизмов?
- 5) Что может служить неуглеводными источниками углерода при культивировании микроорганизмов?
- 6) Что может служить источниками азотного питания при культивировании микроорганизмов?
- 7) Что может служить источниками фосфорного питания при культивировании микроорганизмов?
- 8) Какие побочные продукты производства используют при культивировании микроорганизмов?
- 9) Каковы принципы составления рецептур питательных сред?
- 10) Какие приемы используют оптимизацию ферментационных сред?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Биотехнология: учебное пособие для вузов, в 8 кн., под ред. Егорова Н.С., Самуилова В.Д. – М., 1987.
2. Бирюков, В.В. Основы промышленной биотехнологии / В.В. Бирюков. – М.: КолосС, 2004. – 296 с. – ISBN 5-9532-0231-8 («КолосС»); ISBN 5-98109-008-1 (АНО «Химия»)
3. Блинов, В.А. Общая биотехнология: курс лекций. В 2-х частях. Ч. 1 / В.А. Блинов. – Саратов, 2003.
4. Елинов, Н.П. Основы биотехнологии / Н.П. Елинов. – СПб.: Наука, 1995. – ISBN 5-02-026027-4

Дополнительная

1. Безбородов, А.М. Микробиологический синтез / А.М. Безбородов, Г.И. Квеситадзе. – СПб: Проспект Науки, 2011. – 144 с. – ISBN 978-5-903090-52-5
2. Клунова, С.М. Биотехнология: учебник / С.М. Клунова, Т.А. Егорова, Е.А. Живухина. – М.: Академия, 2010. – 256 с. – ISBN 978-5-7695-6697-4
3. Общая и фармацевтическая биотехнология: учебное пособие. – Самара: НОУ ВПО СМИ «РЕАВИЗ», 2012. – 118 с.
4. Пшеничникова, А.Б. Основы биотехнологии: учебное пособие / А.Б. Пшеничникова. – М.: МИТХТ им. М.В. Ломоносова, 2010. – 92 с.

5. Журналы: Биотехнология, Вестник СГАУ, Прикладная биохимия и микробиология, Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунологии, Фармацевтическая промышленность, Кондитерское и хлебопекарное производство, Масложировая промышленность, Молочная промышленность, Переработка молока, Мясные технологии, Сыроделие и маслоделие, Пиво и напитки, Пищевая технология.
6. <http://www.biotechnolog.ru>
7. Биотехнологический портал Bio-X (ссылка доступа - <http://bio-x.ru>)
8. Интернет-журнал «Коммерческая биотехнология» (ссылка доступа – <http://cbio.ru>)
9. On-line-журнал «Биотехнология. Теория и практика» (ссылка доступа – <http://www.biotechlink.org>)

ПОДГОТОВИТЕЛЬНЫЕ И ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ СТАДИИ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДСТВ (ЧАСТЬ 1)

5.1. Общая характеристика подготовительных стадий

Подготовительные стадии служат для приготовления и подготовки необходимых видов сырья биотехнологической стадии.

На стадии подготовки могут быть использованы следующие процессы.

Приготовление среды, обычно жидкой, включающей необходимые компоненты питания для биотехнологической стадии.

Стерилизация среды – для асептических биотехнологических процессов, где нежелательно попадание посторонней микрофлоры.

Подготовка и стерилизация газов (обычно воздуха), необходимых для протекания биотехнологического процесса. Чаще всего подготовка воздуха заключается в очистке его от пыли и влаги, обеспечении требуемой температуры и очистке от присутствующих в воздухе микроорганизмов, включая споры.

Подготовка посевного материала. Посевной материал – это предварительно выращенное малое по сравнению с основной стадией количество биологического агента. Для проведения микробиологического процесса или процесса культивирования изолированных клеток растений или животных необходимо его подготовить.

Подготовка биокатализатора. Для процессов биотрансформации или биокатализа необходимо предварительно подготовить биокатализатор – либо фермент в свободном или закрепленном на носителе виде, либо биомассу микроорганизмов, выращенную предварительно до состояния, в котором проявляется ее ферментативная активность.

Предварительная обработка сырья. Если сырье поступает в производство в виде, непригодном для непосредственного использования в биотехнологическом процессе, то проводят операцию по предварительной подготовке сырья. Например, при получении спирта пшеницу сначала дробят, а затем подвергают ферментативному процессу «осахаривания», после чего осахаренное сусло на биотехнологической стадии путем ферментации превращается в спирт.

5.2. Основы приготовления питательных сред

Основу питательных сред для культивирования микроорганизмов составляют источники углерода. Кроме углерода клетки микроорганизмов в процессе роста испытывают потребность в азоте, фосфоре, макро- и микроэлементах. Все вещества этого рода находятся в питательных средах в виде солей, исключение составляют среды, где азот и фосфор могут усваиваться растущими культурами из органических источников, например, автолизатов или гидролизатов микробного или животного происхождения.

Отделения приготовления питательной среды представляет собой цех, оборудованный емкостями для хранения жидких и твердых веществ, средствами их транспортировки и аппаратами с перемешивающими устройствами для приготовления растворов, суспензий или эмульсий. При этом питательные соли хранятся обычно в твердом виде, а приготовление их смеси с заданным соотношением компонентов производится в аппарате с мешалкой, куда подаются твердые компоненты в

необходимом количестве и далее происходит их растворение. Иногда соединяются и перемешиваются заранее приготовленные растворы. Жидкие и твердые источники углерода обычно вводят в уже готовую питательную среду непосредственно перед ферментацией, так как это устраняет опасность заражения посторонней микрофлорой, вероятность которого возрастает при хранении готовой питательной смеси.

При непрерывном культивировании в производстве микробного белка углеводороды и растворы солей вводят в ферментер отдельно по индивидуальным линиям, а смешение и эмульгирование нерастворимых в воде n-алканов происходит уже в самом биореакторе. При культивировании бактерий на метане последний постоянно барботируют в аппарат через специальные устройства.

При периодической ферментации в начале процесса инокулят вносится в уже готовую питательную среду, содержащую все компоненты. Поэтому источники углерода вводят непосредственно перед засевом или отдельные компоненты среды вводят по мере потребления их культурой, поддерживая в ферментере некоторую оптимальную их концентрацию, которая на разных этапах ферментации может меняться по определенному закону.

5.3. Получение и подготовка посевного материала

Посевным материалом (инокулятом) называют чистую культуру микроорганизма, которую получают путем ее последовательного пересева из пробирки в колбу, а затем в аппараты увеличивающегося объема до количества, необходимого для промышленного производства. Сначала чистую культуру размножают в лаборатории, затем в цехе чистых культур и инокуляции, далее направляют на культивирование.

Приготовление посевного материала состоит из следующих стадий:

1. Получение культуры микроорганизма в микробиологической лаборатории завода.
2. Выращивание микроорганизмов в малом посевном аппарате.
3. Выращивание микроорганизмов в большом посевном аппарате.
4. Накопление культуры микроорганизмов в малом ферментере.

Передачу чистых культур из одного аппарата в другой осуществляют в конце логарифмической фазы роста. Качество полученного посевного материала контролируют путем микроскопирования.

В биотехнологии широко применяются плесневые грибы, дрожжи, актиномицеты, бактерии и водоросли в виде чистых и смешанных культур. В традиционных процессах ферментации предпочтение обычно отдается смешанным культурам, а в большинстве современных ферментационных процессов – монокультурам (чистым культурам), выращиваемых в асептических условиях. Поддержание чистой культуры штамма-продуцента – ключевая задача любого биотехнологического производства.

Культуры микроорганизмов-продуцентов заводы получают из коллекций в пробирках на агаризованных питательных средах или в ампулах. Чистая культура микроорганизма может постоянно или по мере необходимости использоваться в производстве. При длительном хранении чистых культур могут происходить случайные нерегулируемые мутации. Для избежания мутаций следует не только соблюдать правила хранения и поддержания исходной культуры, но и периодически проводить пересев культуры и проверку ее однородности как по морфологическим, так и по физиологическим признакам.

Вопросы для самоконтроля

- 1) Дайте характеристику подготовительным стадиям биотехнологического процесса.
- 2) Особенности приготовления питательных сред.
- 3) Что называют посевным материалом (инокулятом)?
- 4) Перечислите стадии приготовления посевного материала?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Биотехнология: учебное пособие для вузов, в 8 кн., под ред. Егорова Н.С., Самуилова В.Д. – М., 1987.
2. *Бирюков, В.В.* Основы промышленной биотехнологии / В.В. Бирюков. – М.: КолосС, 2004. – 296 с. – ISBN 5-9532-0231-8 («КолосС»); ISBN 5-98109-008-1 (АНО «Химия»)
3. *Блинов, В.А.* Общая биотехнология: курс лекций. В 2-х частях. Ч. 1 / В.А. Блинов. – Саратов, 2003.
4. *Елинов, Н.П.* Основы биотехнологии / Н.П. Елинов. – СПб.: Наука, 1995. – ISBN 5-02-026027-4

Дополнительная

1. *Безбородов, А.М.* Микробиологический синтез / А.М. Безбородов, Г.И. Квеситадзе. – СПб: Проспект Науки, 2011. – 144 с. – ISBN 978-5-903090-52-5
2. *Клунова, С.М.* Биотехнология: учебник / С.М. Клунова, Т.А. Егорова, Е.А. Живухина. – М.: Академия, 2010. – 256 с. – ISBN 978-5-7695-6697-4
3. *Никитина Е.В.* Микробиология: учебник/ Е.В. Никитина, С.Н. Киямова, О.А. Решетник. – СПб.: ГИОРД, 2009. – 368 с. – ISBN 978-5-98879-075-4
4. Общая и фармацевтическая биотехнология: учебное пособие. – Самара: НОУ ВПО СМИ «РЕАВИЗ», 2012. – 118 с.
5. *Пшеничникова, А.Б.* Основы биотехнологии: учебное пособие / А.Б. Пшеничникова. – М.: МИТХТ им. М.В. Ломоносова, 2010. – 92 с.
6. *Тарантул, В.З.* Толковый биотехнологический словарь русско-английский: справочное издание / В.З. Тарантул. – М.: Языки славянских культур, 2009. – 936 с.
7. Журналы: Биотехнология, Прикладная биохимия и микробиология, Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунологии, Фармацевтическая промышленность
8. <http://www.biotechnolog.ru>

ПОДГОТОВИТЕЛЬНЫЕ И ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ СТАДИИ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДСТВ (ЧАСТЬ 2)

6.1. Стерилизация питательных сред, оборудования и воздуха

Асептика – это комплекс мероприятий, направленных на предотвращение попадания в среду или на объект посторонних микроорганизмов.

Необходимость обеспечения асептических условий в биотехнологических процессах обусловлена следующими факторами:

- посторонние микроорганизмы-контаминанты потребляют компоненты питательных веществ и при этом выделяют метаболиты, тормозящие рост основной культуры;
- развитие контаминантов неконтролируемо влияет на условия режима роста и развития основной культуры;
- наличие в культуральной жидкости посторонней микрофлоры и продуктов ее жизнедеятельности затрудняет выделение целевого продукта и снижает его качество.

Стерилизация всех компонентов биотехнологического процесса, соприкасающимися с чистыми культурами микроорганизмов – важнейший этап биотехнологического производства.

Методы, применяемые для исключения попадания в культуру посторонней микрофлоры, основаны на задержке или уничтожении микроорганизмов. Добиться требуемой чистоты вещества возможно установкой физической преграды для микроорганизмов (фильтры) или уничтожив их до подачи в стерильный объект.

К способам, основанным на принципе задержки микроорганизмов, относят стерилизующую фильтрацию воздуха и жидкостей и герметизацию технологического оборудования и коммуникаций. Эти способы по своей сути являются физическими.

К способам стерилизации, основанным на уничтожении микроорганизмов, относят термическую, химическую и радиационную стерилизацию, которые применяют для обеззараживания оборудования, коммуникаций, питательных сред и технологических растворов.

Методы стерилизации

В качестве стерилизующего агента при *термической стерилизации* обычно используют водяной пар, подаваемый под различным давлением и температурой. Так, пустые аппараты и коммуникации чаще всего стерилизуют насыщенным водяным паром; питательные среды и другие жидкости – путем нагревания под давлением, в ряде случаев применяют горячий воздух (сухой жар). Сухой горячий воздух используют для стерилизации материалов и предметов, которые могут быть испорчены при обработке паром (безводные жиры, масла, порошки, предметы, подверженные коррозии, и т.п.).

Химическую стерилизацию применяют для тех элементов оборудования, которые не выдерживают нагревания до 110 - 130 °С (например, датчики, фильтры воздуха и т.п.).

В качестве агентов *химической стерилизации* используют формальдегид, оксид этилена, перекись водорода, щелочи, спирты, кислоты, β-пропионолактон.

Радиационная стерилизация вызывает гибель микроорганизмов за счет воздействия ионизирующего излучения. В силу многих технических причин этот способ пока не нашел широкого применения в микробиологической промышленности.

Способ *стерилизующей фильтрации* обеспечивает полное или частичное задержание микроорганизмов. Он широко применяется для очистки газов (азрирующего возду-

ха) и жидкостей (главным образом, на конечных стадиях производства фармацевтических препаратов).

Очистка и стерилизация воздуха

Важным технологическим процессом в биологических производствах является очистка от механических включений и стерилизация воздуха, используемого для вентиляции цехов и боксов, передачи под давлением стерильных культуральных жидкостей и растворов, поддержания избыточного давления в стерильных емкостях. В значительных количествах стерильный воздух используется для аэрации процесса культивирования.

Для стерилизации газовых потоков используют процесс фильтрации через специальные волокнистые фильтры с последовательно расположенными фильтрующими элементами. Фильтрующий материал периодически стерилизуется подачей острого пара в отключенный фильтр через заданные промежутки времени.

Эффективность работы фильтров для стерилизации воздуха определяется следующими факторами:

- эффективность и механическая прочность фильтрующего материала;
- герметичность крепления фильтрующего материала в корпусе фильтра;
- удобство и быстрота перезарядки фильтра.

По конструкции фильтры для стерилизации воздуха делятся на две группы:

1. Фильтры глубинного типа с применением волокнистых фильтрующих материалов.

2. Фильтры с отдельными фильтрующими элементами.

Ряд субстратов не требует стерилизации, так как они сами обладают асептическим действием; сюда относят метанол, этанол, концентрированная уксусная кислота и др. В этом случае ограничиваются стерилизацией прочих элементов питательной среды.

6.2. Очистка отработанного воздуха

Отводимый из лабораторных и производственных помещений отработанный воздух также должен подвергаться очистке от присутствующих в нем микроорганизмов и контролироваться на чистоту.

Например, на гидролизно-дрожжевом заводе, при обследовании воздуха, выбрасываемого из ферментера, было выявлено от $16 \cdot 10^3$ до $316 \cdot 10^3$ клеток микроорганизмов на м^2 , а на заводе по производству белково-витаминных концентратов – $(200 - 436) \cdot 10^3$ клеток на 1 м^3 .

Большая запыленность воздуха белковыми и другими и другими продуктами микробного синтеза отмечается на стадиях сушки, упаковки и погрузки в вагоны. Значительная запыленность воздуха питательными солями и сырьем (опилки, отруби, мука и др.) имеет место в отделениях и цехах приготовления питательных сред.

Одним из важнейших мероприятий, снижающих выброс микроорганизмов в окружающую среду, является герметизация ферментеров, флотаторов и оборудования узла сепарации. На ряде предприятий дрожжевого профиля высокоэффективная очистка отработанного воздуха из ферментаторов, флотаторов, узла, сушильных установок и упаковочного отделения осуществляется с помощью скрубберов Вентури. Он состоит из трубы Вентури (турбулентный промыватель), предназначенной для коагулирования мелких твердых частиц, инерционного аппарата и центробежного скруббера для отделения газа и укрупненных частиц и капелек жидкости. Запыленный газ подается вентилятором в трубу Вентури и смешивается с водой. Скоагулированные частицы пыли с

мелкими капельками воды и газа поступают в инерционный аппарат, где газ частично отделяется от жидкости. Окончательное отделение жидкости от газа осуществляется в центробежном скруббере. Очищенный газ выбрасывается в атмосферу, а вода с твердыми частицами выводится из инерционного аппарата и скруббера в сборник. Вода из сборника многократно используется для орошения трубы Вентури и может направляться в производство с целью утилизации уловленных частиц.

Представляет интерес мокрое улавливание пылевидных частиц концентрата лизина, уносимых с газом из циклонов распылительной сушилки. В этом случае потери лизина на стадии сушки сводятся к минимуму в связи с хорошей растворимостью лизина в воде и возвратом его в производство в концентрированном виде с последующей сушкой на предприятиях, со сравнительно небольшими объемами загрязненных воздушных выбросов. Очистку воздуха до чистого или стерильного состояния можно осуществлять с помощью фильтров грубой и тонкой очистки ли путем сжигания. В ряде случаев снижения вредных выбросов в атмосферу можно достичь путем совершенствования технологии.

Вопросы для самоконтроля

- 1) Что понимают под термином «асептика»?
- 2) Какими процессами обусловлена необходимость обеспечения асептических условий в биотехнологических процессах?
- 3) Методы стерилизации.
- 4) Очистка и стерилизация воздуха.
- 5) Какими факторами определяется эффективность работы фильтров для стерилизации воздуха?
- 6) Как проводят очистку отработанного воздуха?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Биотехнология: учебное пособие для вузов, в 8 кн., под ред. Егорова Н.С., Самуилова В.Д. – М., 1987.
2. Бирюков, В.В. Основы промышленной биотехнологии / В.В. Бирюков. – М.: КолосС, 2004. – 296 с. – ISBN 5-9532-0231-8 («КолосС»); ISBN 5-98109-008-1 (АНО «Химия»)
3. Блинов, В.А. Общая биотехнология: курс лекций. В 2-х частях. Ч. 1 / В.А. Блинов. – Саратов, 2003.
4. Елинов, Н.П. Основы биотехнологии / Н.П. Елинов. – СПб.: Наука, 1995. – ISBN 5-02-026027-4
5. Клунова, С.М. Биотехнология: учебник / С.М. Клунова, Т.А. Егорова, Е.А. Живухина. – М.: Академия, 2010. – 256 с. – ISBN 978-5-7695-6697-4

Дополнительная

1. Основы биотехнологических процессов: Учебно-методическое пособие по биотехнологии. Часть I. Способы поддержания асептических условий при культивировании / И.В. Тихонов. – М.: МГАВМиБ, 2001. – 31 с.
2. Пшеничникова, А.Б. Основы биотехнологии: учебное пособие / А.Б. Пшеничникова. – М.: МИТХТ им. М.В. Ломоносова, 2010. – 92 с.
3. Тарантул, В.З. Толковый биотехнологический словарь русско-английский: справочное издание / В.З. Тарантул. – М.: Языки славянских культур, 2009. – 936 с.

4. Журналы: Биотехнология, Прикладная биохимия и микробиология, Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунологии, Фармацевтическая промышленность
5. <http://www.biotechnolog.ru>

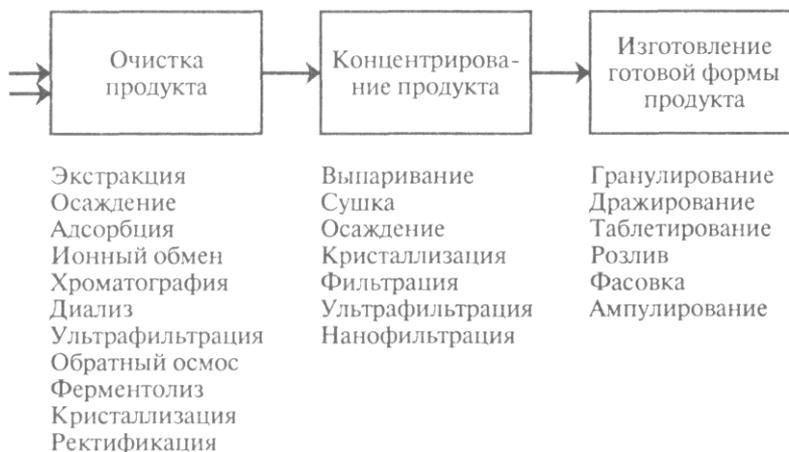
СОБСТВЕННО БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ СТАДИЯ

7.1. Способы получения целевого продукта на биотехнологической стадии

Продукты биотехнологии получают по индивидуальным технологиям со своими биологическими агентами, сырьем, числом стадий производства и их технологическими режимами.

Обобщенная типовая схема биотехнологических производств следующая:

Типовая схема, основные стадии и реализующие их технологические процессы в биотехнологических производствах



Основной стадией является *собственно биотехнологическая стадия*. На этой стадии с помощью биологического агента (микроорганизмов, изолированных клеток,

ферментов или клеточных органелл) сырье преобразуется в тот или иной целевой продукт.

Биотехнологическая стадия включает в себя следующие процессы:

1. **Ферментация** – процесс, осуществляемый с помощью культивирования микроорганизмов.
2. **Биотрансформация.**
3. **Биокатализ** – химические превращения вещества, которые протекают с использованием биокатализаторов – ферментов.
4. **Биоокисление** – потребление загрязняющих веществ с помощью микроорганизмов в аэробных условиях.
5. **Метановое брожение** – переработка органических отходов с помощью ассоциации метаногенных микроорганизмов в анаэробных условиях.
6. **Биокомпостирование** – снижение содержания вредных органических веществ микроорганизмами в твердых отходах, которым придана специальная взрыхленная структура для обеспечения доступа воздуха и равномерного увлажнения.
7. **Биосорбция** – сорбция вредных примесей из газов или жидкостей микроорганизмами, обычно закрепленными на специальных твердых носителях.
8. **Бактериальное выщелачивание.**
9. **Биодеградация** – деструкция вредных соединений под воздействием микроорганизмов-биодеструкторов.

Обычно биотехнологическая стадия имеет в качестве выходных потоков один жидкостной поток и один газовый, иногда только один – жидкостной. Если процесс протекает в твердой фазе (например, созревание сыра или биокомпостирование отходов), выходом является поток переработанного твердого продукта.

7.2. Стадии и кинетика роста микроорганизмов

Микроорганизмы, попав в свежую полноценную питательную среду, начинают размножаться не сразу. Этот период называют лаг-фазой - **I фаза** (рис. 7.1). В этот период культура как бы привыкает к новым условиям обитания. Активируются ферментные системы, если необходимо, синтезируются новые ферментные системы, клетка готовится к синтезу нуклеиновых кислот и других соединений. Продолжительность этой фазы зависит от физиологических особенностей микроорганизмов, состава питательной среды и условий культивирования. Чем эти различия меньше и чем больше посевного материала, тем короче эта фаза.

II фаза называется фазой ускоренного роста, она характеризуется началом деления клеток, увеличением общей массы популяции и постоянным увеличением скорости роста культуры; обычно она непродолжительна.

Затем следует логарифмическая, или экспоненциальная фаза роста - **III фаза**. В этот период отмечается максимальная скорость роста культуры, интервалы между появлением предыдущего и последующего поколения постоянны. Логарифм числа клеток линейно зависит от времени.

Вследствие интенсивного роста и размножения культуры запас необходимых питательных веществ в среде уменьшается. Это является основной причиной снижения скорости роста культуры. Кроме того, в среде накапливаются продукты метаболизма, ко-

торые в определенной концентрации могут мешать нормальному протеканию биохимических процессов обмена веществ. Иногда в питательной среде образуется так много клеток, что для новых поколений клеток не хватает пространства, а точнее, поверхности. Скорость роста снижается, уменьшается число делений клеток, наступает **IV фаза** – фаза замедления или уменьшения скорости роста.

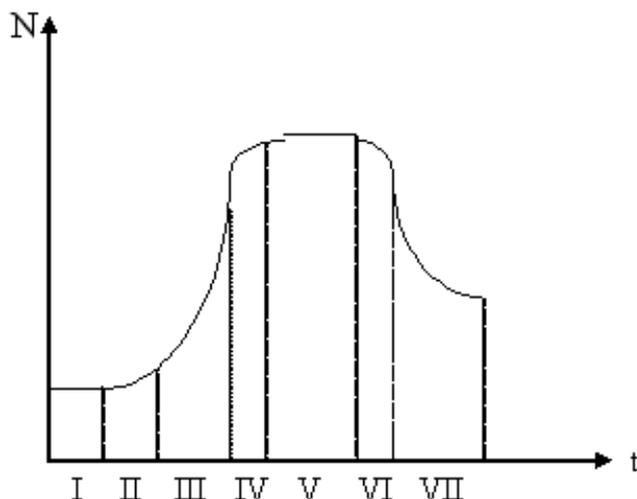


Рис. 7.1. Кривая роста микроорганизмов (зависимость количества клеток от времени культивирования): I, II, III, IV, V, VI, VII – фазы роста

V фаза называется стационарной (фазой линейного роста). Масса и количество всех живых клеток достигает максимума. Количество вновь образовавшихся клеток на этом этапе равно количеству клеток, отмерших и автолизированных (разрушенных клеточными ферментами).

В какой-то момент это равновесие нарушается и количество отмерших клеток превышает прирост. Наступает **VI фаза** – фаза ускорения отмирания.

Завершается цикл роста и развития популяции в замкнутом объеме **VII фазой**, характеризующейся отмиранием и автолизом микроорганизмов, которая называется фазой отмирания. На этой стадии биомасса клеток значительно уменьшается, так как запасные вещества клетки исчерпываются.

Кинетика роста микроорганизмов

Для выращивания любой культуры необходимы: 1) жизнеспособный посевной материал; 2) источники энергии и углерода; 3) питательные вещества для синтеза биомассы; 4) отсутствие ингибиторов роста; 5) соответствующие физико-химические условия (температура, pH среды, наличие или отсутствие кислорода и др.).

Если все эти требования выполнены, то скорость роста (увеличения биомассы) одноклеточных микроорганизмов с бинарным делением, размножающихся в условиях хорошо перемешиваемой периодической культуры, будет пропорциональна концентрации микробной массы, то есть:

$$dx / dt = \mu \cdot x,$$

где dx / dt – скорость роста; μ – коэффициент пропорциональности, обычно называемый удельной скоростью роста; x – концентрация биомассы (на сухой вес).

Если μ является постоянной величиной, то такой рост культуры микроорганизмов называют экспоненциальным или логарифмическим. Он имеет место тогда, когда состав микробной биомассы и условия окружающей среды остаются постоянными. Это относится и к смешанным культурам, в которых одноклеточные организмы равномерно распределены в культуральной среде.

7.3. Классификация процессов ферментации

Ферментация (культивирование) – это вся совокупность последовательных операций от внесения в заранее приготовленную и термостатированную питательную среду посевного материала (инокулята) до завершения процессов роста и биосинтеза вследствие исчерпания питательных веществ среды.

Известно множество процессов культивирования микроорганизмов. Они различаются следующим образом.

1) **По признаку целевого продукта** процесса ферментация может быть следующих типов:

- ферментация, в которой целевым продуктом является сама биомасса микроорганизмов; такие процессы часто обозначают словами «культивирование», «выращивание»;
- целевым продуктом является не сама биомасса, а продукты метаболизма – внеклеточные или внутриклеточные; такие процессы называют процессами биосинтеза;
- задачей ферментации является утилизация определенных компонентов исходной среды; к таким процессам относятся биоокисление, метановое брожение, биокомпостирование и биodeградация.

2) **По основной фазе, в которой протекает процесс ферментации**, различаются:

- поверхностная (твердофазная) ферментация – культивирование на агаровых средах, на зерне, производство сыра и колбас, биокомпостирование и др.;
- глубинная (жидкофазная) ферментация, где биомасса микроорганизмов суспендирована в жидкой питательной среде, через которую при необходимости продувается воздух или другие газы;
- газофазная ферментация, в которой процесс протекает на твердом носителе, где закрепляются микроорганизмы, но сами частицы носителя взвешены в потоке газа, насыщенный аэрозолем питательной среды. Подобный способ ферментации используется довольно редко, в основном, при очистке газов от вредных и одорирующих примесей.

3) **По отношению к кислороду** различают аэробную, анаэробную и факультативно-анаэробную ферментацию – по аналогии с классификацией самих микроорганизмов.

4) **По отношению к свету** – световая (фототрофная) и темновая (хемотрофная) ферментация.

5) **По степени защищенности от посторонней микрофлоры** – асептическая, условно асептическая и неасептическая ферментация. Иногда асептическую ферментацию называют стерильной, что неверно: в среде есть целевые микроорганизмы, но нет чужеродных.

В условно асептической ферментации допускается некоторый уровень попадания посторонней микрофлоры, которая способна сосуществовать с основной или по содержанию не превышает определенного предела.

6) **По числу видов микроорганизмов** различают ферментации на основе монокультуры (или чистой культуры) и смешанное культивирование, в котором осуществляется совместное развитие ассоциации двух или более культур.

7) *По способу организации* процессы ферментации могут быть: периодические; непрерывные; многоциклические; отъемно-доливные; периодические с подпиткой субстрата; полунепрерывные с подпиткой субстрата.

В *периодических процессах* загрузка сырья и посевного материала в аппарат производится одновременно, затем в аппарате в течение определенного времени идет процесс, а после его завершения полученная ферментационная жидкость выгружается из аппарата.

В *непрерывных процессах* загрузка и выгрузка среды протекают непрерывно и одновременно, причем скорость подачи в аппарат свежей питательной среды равна скорости отбора из аппарата ферментационной жидкости. В итоге объем среды в аппарате сохраняется постоянным в течение длительного времени.

Многоциклические процессы в основном напоминают периодические, но при выгрузке в аппарате оставляется часть ферментационной жидкости, которая служит посевным материалом для следующей ферментации (цикла), и только после этого добавляется свежая питательная среда. Такая организация процесса позволяет обойтись без специальной стадии приготовления посевного материала.

В *отъемно-доливных процессах* ферментация в промежутках между загрузкой и разгрузкой аппарата протекает как периодическая, но после некоторого времени, определяемого по состоянию процесса, часть ферментационной среды выгружают и заменяют свежей средой. В сравнении с многоциклическим процессом здесь меньше отбираемая часть жидкости, но зато и интервалы между отборами меньше и число отборов гораздо больше. Процесс при таких частых отборах и добавлениях среды протекает по-другому, чем в строго периодическом процессе, и часто имеет лучшие характеристики, а не только обеспечивает экономию на посевном материале.

В *периодическом процессе с подпиткой субстрата* часть среды загружается в начале ферментации, а другая часть добавляется непрерывно по мере протекания процесса. Естественным завершением процесса является переполнение аппарата, поэтому необходимо переходить на строго периодический процесс с максимальным объемом среды и быстро завершать его.

Полунепрерывные процессы с подпиткой субстрата являются сочетанием отъемно-доливных и подпиточных. В таком процессе с подпиткой после достижения определенного состояния происходит отбор части ферментационной жидкости из аппарата, а затем постепенное добавление субстрата до нового заполнения аппарата. В результате удается снять с одного аппарата во много раз больше культуральной жидкости; процесс при этом протекает значительно интенсивнее.

7.4. Кинетические характеристики процесса ферментации

Кинетические характеристики процесса отражают скорость протекания биохимических превращений во времени.

1. Кинетические показатели роста биомассы. Скорость роста биомассы – важный показатель процесса ферментации. Вид кривой роста очень похож для различных микроорганизмов, однако время ферментации существенно различается. Для быстрорастущих бактерий весь цикл может закончиться за несколько часов, а для мицелиальных микроорганизмов или изолированных клеток растений время составляет недели и месяцы.

Для описания скорости роста используется *общая скорость роста* Q_X :

$$Q_X = \frac{dX}{dt}$$

Этот показатель не вполне отражает физиологическое состояние биомассы в процессе его роста. На рис. 7.2 представлены два процесса, протекающие с одинаковой общей скоростью роста биомассы.

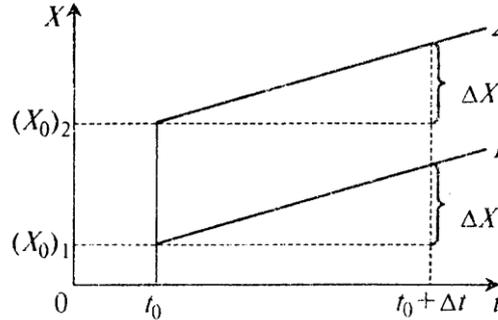


Рис. 7.2. Сравнение двух процессов ферментации (1 и 2) с одинаковой общей скоростью роста биомассы

В первом процессе исходная концентрация биомассы меньше, во втором – больше. Поэтому хотя абсолютный прирост биомассы ΔX за одинаковое время Δt такой же, относительный прирост $\Delta X/X_0$ различается существенно: в первом случае количество биомассы возрастает в несколько раз по отношению к начальному, а во втором – по отношению к начальной биомассе рост составляет всего 20 - 30 %. Ясно, что биомасса «работает» в этих двух процессах по-разному, хотя и «выдает» одинаковое количество продукции за то же время.

Большой интерес для характеристики интенсивности роста представляет *удельная скорость роста* в пересчете на единицу биомассы (так как рост биомассы пропорционален концентрации клеток) μ :

$$\mu = \frac{Q_X}{X} = \frac{dX}{Xdt}$$

Величина μ в ходе обычного периодического процесса изменяется (рис. 7.3).

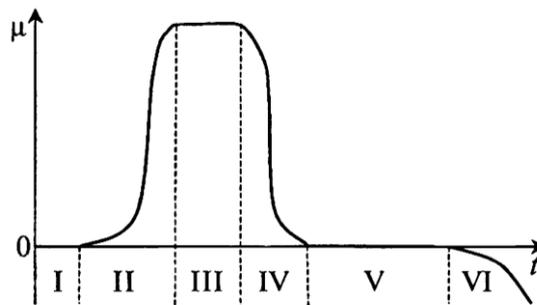


Рис. 7.3. Изменение удельной скорости роста биомассы во времени в периодическом процессе ферментации: I – лаг-фаза; II – фаза ускорения роста; III – фаза экспоненциального роста; IV – фаза замедления роста; V – стационарная фаза; VI – фаза отмирания.

В экспоненциальной фазе, когда рост ничем не лимитирован, величина μ постоянна, а рост биомассы описывается уравнением:

$$\frac{dX}{dt} = \mu X.$$

Если бы процесс с самого начала определялся этой зависимостью, то концентрация биомассы изменялась бы начиная с X_0 по уравнению:

$$X = X_0 e^{\mu t}.$$

Прологарифмировав обе части уравнения, получаем:

$$\ln X = \ln X_0 + \mu t.$$

Это уравнение показывает, почему для экспоненциальной фазы в логарифмических координатах график будет прямолинейным, причем тангенс угла наклона пропорционален μ (рис. 7.4).

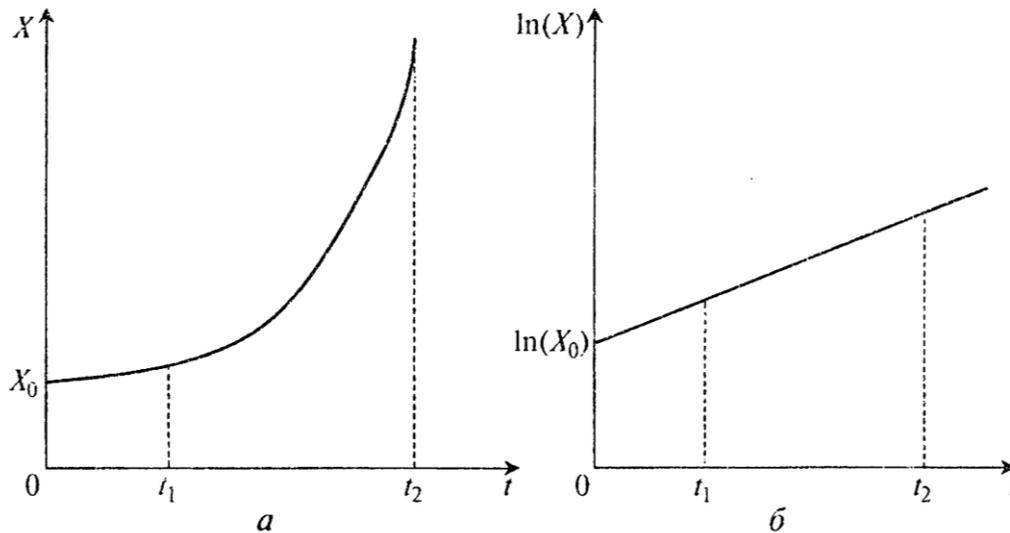


Рис. 7.4. Экспоненциальный рост биомассы во времени, представленный в обычной (а) и полулогарифмической (б) системе координат; тангенс угла наклона прямой равен μ

Таким образом, по двум точкам на линейном участке полулогарифмического графика можно определить μ по формуле:

$$\mu = \frac{\ln X_2 - \ln X_1}{t_2 - t_1}.$$

Микробиологи предпочитают другой параметр – **время генерации g** – время, за которое биомасса культуры удваивается. Легко найти связь между величиной μ и g . Как видно из уравнения

$$\text{при } t = 0 \quad X = X_0;$$

$$\text{при } t = g \quad X = 2X_0.$$

Тогда

$$2X_0 = X_0 e^{\mu g}$$

$$e^{\mu g} = 2;$$

$$\mu g = \ln 2;$$

$$g = \frac{\ln 2}{\mu} = \frac{0,69}{\mu}.$$

Удельную скорость роста μ иногда называют «коэффициент скорости роста». Это не совсем правильно. Слово «коэффициент» неявно подразумевает, что это некая постоянная величина, которая не изменяется со временем. На самом деле величина μ в ходе периодического процесса изменяется, и можно построить кривую этого изменения (рис. 7.4). Это не коэффициент, а параметр – такой же, как X , S , P .

Из рис. 7.4 следует, что в фазе отмирания удельная скорость роста приобретает отрицательное значение.

Размерность величины μ – [ч^{-1}] или [мин^{-1}], но лучше первое, так как микробиологические процессы протекают не так быстро.

Удельная скорость роста для различных видов микроорганизмов имеет разные значения. Для многих бактерий она велика и может достигать 0,5 и даже 1,0 ч^{-1} . Для грибов и актиномицетов скорость роста не выходит за пределы 0,1 ч^{-1} , а для микроводорослей, а также растительных и животных клеток находится на уровне 0,01 ч^{-1} .

2. Кинетика потребления субстрата. Поскольку субстрат потребляется, его концентрация S с течением времени падает, и, в конце концов, недостаток субстрата начинает тормозить дальнейший рост клеток микроорганизмов (рис. 7.5).

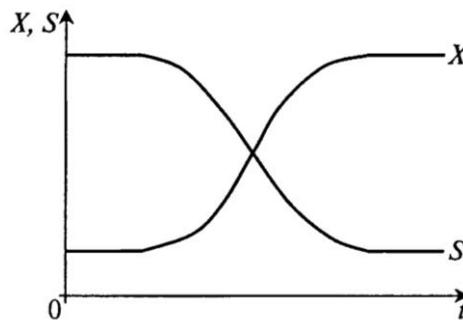


Рис. 7.5. Типичная взаимозависимость изменения во времени концентраций биомассы и субстрата

Общая скорость потребления субстрата Q_S :

$$Q_S = - \frac{dS}{dt}.$$

Знак (–) обозначает, что скорость потребления положительна, когда концентрация субстрата в среде падает (т.е. скорость изменения концентрации отрицательна).

Удельная скорость потребления субстрата q_S :

$$q_S = \frac{Q_S}{X} = - \frac{1}{x} \frac{dS}{dt}.$$

3. Кинетика биосинтеза продуктов метаболизма. В некоторых процессах наряду с ростом биомассы происходит накопление в среде продукта метаболизма (его текущая концентрация P).

Общая скорость биосинтеза продукта метаболизма Q_P в периодическом процессе:

$$Q_P = \frac{dP}{dt}.$$

Удельная скорость биосинтеза продукта из единицы биомассы q_P :

$$q_P = \frac{Q_P}{X} = \frac{1}{x} \frac{dP}{dt}.$$

7.5. Макростехиометрические характеристики процесса ферментации

Макростехиометрические характеристики выражают взаимосвязь между приростом биомассы, продукта и расходом субстрата.

1) *Экономический коэффициент* (или *коэффициент выхода*):

- *экономический коэффициент по биомассе Y_{XS}* – его определяют, сравнивая количество выросшей за весь цикл ферментации биомассы X_k к количеству загруженного субстрата S_0 :

$$Y = X_k / S_0.$$

Вернемся к коэффициенту Y_{XS} . Понятно, что он определен не совсем точно. В начале процесса уже существует некоторое количество биомассы, определяемое ее концентрацией X_0 , так что прирост ее за время ферментации меньше, чем X_k , и равен $(X_k - X_0)$.

В то же время не весь субстрат до конца расходуется за время процесса; какая-то часть его, определяемая конечной концентрацией S_k , останется, так что потребление субстрата будет не S_0 , а $(S_0 - S_k)$.

Таким образом, сам биологический процесс более правильно характеризовать коэффициентом, найденным по формуле:

$$Y_{XS} = \frac{X_k - X_0}{S_0 - S_k} = \frac{\Delta X}{\Delta S} \left[\frac{\text{г биомассы}}{\text{г субстрата}} \right].$$

С точки зрения производителя лучше первое определение, так как остаточный субстрат – это в любом случае невосполнимые его потери, а выращенный до ферментации посевной материал – это достижение.

- *экономический коэффициент по продукту метаболизма Y_{PS}* :

$$Y = P_k/S_0.$$

$$Y_{PS} = \frac{P_k - P_0}{S_0 - S_k} = \frac{\Delta P}{\Delta S} \left[\frac{\text{г продукта}}{\text{г субстрата}} \right].$$

2) *Метаболические, или трофические, коэффициенты:*

$$Y_{SX} = \frac{1}{Y_{XS}} = \frac{S_0 - S_k}{X_k - X_0} = \frac{\Delta S}{\Delta X} \left[\frac{\text{г субстрата}}{\text{г биомассы}} \right];$$

$$Y_{SP} = \frac{1}{Y_{PS}} = \frac{S_0 - S_k}{P_k - P_0} = \frac{\Delta S}{\Delta P} \left[\frac{\text{г субстрата}}{\text{г продукта}} \right].$$

Любой вид экономического или трофического коэффициента можно вычислять не только по начальным и конечным значениям параметров, т.е. за весь период ферментации, но и за любой произвольно взятый промежуток времени Δt , используя для его вычисления соответственно этому промежутку определенные значения ΔX , ΔS и ΔP (рис. 7.6).

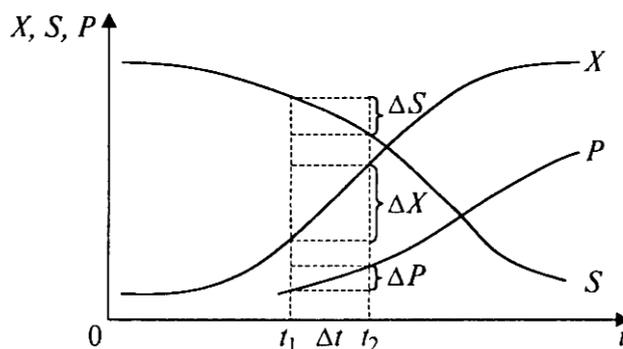


Рис. 7.6. К определению экономического коэффициента за произвольный промежуток времени $\Delta t = t_2 - t_1$

Тогда получим значения коэффициентов Y_{XS} и Y_{PS} за данный промежуток времени.

В пределе можно рассматривать промежуток Δt сколь угодно малым — вплоть до бесконечно малого dt , и ему будут соответствовать сколь угодно малые приросты dX , dP и dS .

Мгновенные текущие коэффициенты (относительные стехиометрические коэффициенты):

$$Y_{XS} = \frac{dX}{dS}; \quad Y_{PS} = \frac{dP}{dS}; \quad Y_{SX} = \frac{dS}{dX}; \quad Y_{SP} = \frac{dS}{dP}.$$

Относительные коэффициенты образования продуктов в соответствии с приростом биомассы:

$$Y_{PS} = \frac{dP}{dX}; \quad Y_{XS} = \frac{dX}{dP}.$$

Вопросы для самоконтроля

- 1) Перечислите основные стадии биотехнологического производства.
- 2) Какие биотехнологические процессы реализуются при биотехнологическом производстве?
- 3) Что понимают под собственно биотехнологической стадией?
- 4) Какие стадии роста культуры выделяют?
- 5) Какие условия необходимы для выращивания любой культуры?
- 6) Как определяют скорость роста (увеличения биомассы) одноклеточных микроорганизмов с бинарным делением?
- 7) Что понимают под термином «ферментация» (культивирование)?
- 8) Классификация процессов ферментации по признаку целевого продукта.
- 9) Классификация процессов ферментации по основной фазе, в которой протекает процесс ферментации.
- 10) Классификация процессов ферментации по отношению к кислороду.
- 11) Классификация процессов ферментации по отношению к свету.
- 12) Классификация процессов ферментации по степени защищенности от посторонней микрофлоры.
- 13) Классификация процессов ферментации по числу видов микроорганизмов.
- 14) Классификация процессов ферментации по способу организации.
- 15) Дайте характеристику периодических и непрерывных процессов ферментации.
- 16) Многоциклические процессы ферментации.
- 17) Отъемно-доливные процессы ферментации.
- 18) Периодические процессы с подпиткой субстрата.
- 19) Полунепрерывные процессы с подпиткой субстрата.
- 20) Перечислите кинетические показатели роста биомассы.
- 21) Как определяют общую и удельную скорость роста биомассы?
- 22) Что такое «время генерации»?
- 23) Как определяют общую и удельную скорость потребления субстрата?
- 24) Как определяют общую и удельную скорость биосинтеза продукта метаболизма?
- 25) Перечислите макростехиометрические характеристики процесса ферментации.
- 26) Как определяют экономический коэффициент по биомассе и по продукту метаболизма?
- 27) Как рассчитывают метаболические, или трофические, коэффициенты?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Биотехнология: учебное пособие для вузов, в 8 кн., под ред. Егорова Н.С., Самуилова В.Д. – М., 1987.
2. *Бирюков, В.В.* Основы промышленной биотехнологии / В.В. Бирюков. – М.: КолосС, 2004. – 296 с. – ISBN 5-9532-0231-8 («КолосС»); ISBN 5-98109-008-1 (АНО «Химия»)
3. *Блинов, В.А.* Общая биотехнология: курс лекций. В 2-х частях. Ч. 1 / В.А. Блинов. – Саратов, 2003.
4. *Елинов, Н.П.* Основы биотехнологии / Н.П. Елинов. – СПб.: Наука, 1995. – ISBN 5-02-026027-4
5. *Никитина Е.В.* Микробиология: учебник/ Е.В. Никитина, С.Н. Киямова, О.А. Решетник. – СПб.: ГИОРД, 2009. – 368 с. – ISBN 978-5-98879-075-4

Дополнительная

1. *Клунова, С.М.* Биотехнология: учебник / С.М. Клунова, Т.А. Егорова, Е.А. Живухина. – М.: Академия, 2010. – 256 с. – ISBN 978-5-7695-6697-4

2. Общая и фармацевтическая биотехнология: учебное пособие. – Самара: НОУ ВПО СМИ «РЕАВИЗ», 2012. – 118 с.
3. Основы биотехнологических процессов: Учебно-методическое пособие по биотехнологии. Часть II. Способы культивирования микроорганизмов / И.В. Тихонов. – М.: МГАВМиБ им. К.И. Скрябина, 2001. – 58 с.
4. *Пшеничникова, А.Б.* Основы биотехнологии: учебное пособие / А.Б. Пшеничникова. – М.: МИТХТ им. М.В. Ломоносова, 2010. – 92 с.
5. *Тарантул, В.З.* Толковый биотехнологический словарь русско-английский: справочное издание / В.З. Тарантул. – М.: Языки славянских культур, 2009. – 936 с.
6. Журналы: Биотехнология, Прикладная биохимия и микробиология, Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунологии, Фармацевтическая промышленность
7. <http://www.biotechnolog.ru>

ПОСТФЕРМЕНТАЦИОННЫЕ СТАДИИ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДСТВ (ЧАСТЬ 1)

8.1. Отделение биомассы от культуральной жидкости

Ассортимент продуктов, получаемых в биотехнологических процессах, чрезвычайно широк. По разнообразию и объемам производства на первом месте стоят продукты, получаемые в процессах, основанных на жизнедеятельности микроорганизмов. Эти продукты подразделяются на три основные группы:

1 группа – биомасса, которая является целевым продуктом (белок одноклеточных) или используется в качестве биологического агента (биометаногенез, бактериальное выщелачивание металлов);

2 группа – первичные метаболиты – это низкомолекулярные соединения, необходимые для роста микроорганизмов в качестве строительных блоков макромолекул, коферментов (аминокислоты, витамины, органические кислоты);

3 группа – вторичные метаболиты (идиолиты) – это соединения, не требующиеся для роста микроорганизмов и не связанные с их ростом (антибиотики, алкалоиды, гормоны роста и токсины).

Чаще всего целевой продукт находится либо в самой биомассе, либо в жидкости. В обоих случаях необходимо сначала разделить эти две фазы. В зависимости от свойств биомассы и жидкости для этих целей могут быть использованы различные процессы.

Отстаивание – разделение под действием гравитационных сил (обычно при очистке сточных вод).

Фильтрация – пропускание суспензии через фильтрующий материал, на котором задерживаются частицы твердой фазы – биомасса. Такой способ применяют в производстве антибиотиков, особенно в тех случаях, когда микроорганизм-продуцент имеет мицелиальный характер.

Сепарация, центрифугирование – разделение под действием центробежных сил. Наиболее часто используется для отделения дрожжей или бактерий в производстве кормовой биомассы.

Микрофильтрация, ультрафильтрация – пропускание суспензии через мембраны с весьма малым размером пор, обеспечивающее удержание клеток микроорганизмов на мембране и получение раствора, свободного от взвешенных клеток. Ультрафильтрация задерживает не только клетки, но и крупные молекулы растворенных веществ.

Коагуляция – добавление в суспензию реагентов, способствующих образованию и осаждению более крупных клеточных агломератов и отделению их от жидкости путем отстаивания.

Флотация – захват биомассы микроорганизмов пузырьками пены и выделение ее из пенной фракции.

8.2. Дезинтеграция клеток

Так, для внутриклеточных продуктов сначала необходимо разрушить клеточную оболочку одним из методов, среди которых можно назвать следующие.

Дезинтеграция клеток. Этот процесс разрушения клеточной оболочки может осуществляться физическими методами (с помощью мелющих тел, путем

замораживания и продавливания, воздействием ультразвуком, методом декомпрессии – резкого сброса давления) или химическими и биотехнологическими методами.

Гидролиз – разрушение клеточных оболочек под действием химических реагентов и температуры.

Ферментолиз – разрушение клеточных оболочек под действием ферментов при повышенной температуре.

Автолиз – разновидность ферментолиза, когда используют собственные ферменты клетки.

8.3. Выделение продуктов метаболизма и синтеза

После проведения предварительной операции разрушения клеток выделение целевого продукта осуществляется из раствора методами, которые являются общими для внеклеточных и внутриклеточных продуктов.

Экстракция – переход целевого продукта из водной фазы в несмешивающуюся с водой органическую жидкость (экстрагент).

Наиболее известно выделение жироподобных веществ жидкими углеводородами (типа бензина), но применяются и многие другие виды экстрагентов (хлороформ, эфир, бутилацетат). Экстракция прямо из твердой фазы (в том числе и биомассы микроорганизмов) называется экстрагированием.

Осаждение – выделение целевого продукта путем добавления к жидкости реагента, взаимодействующего с растворенным продуктом и переводящего его в твердую фазу.

Адсорбция – перевод растворенного в жидкости продукта в твердую фазу путем его сорбции на специальных твердых носителях (сорбентах).

Ионный обмен – то же, что адсорбция, но в этом случае в твердую фазу переходят ионы (катионы или анионы), а не целиком молекула целевого продукта или примеси.

Отгонка, ректификация – эти методы используют для выделения растворенных в культуральной жидкости легкокипящих продуктов. Пример – этиловый спирт.

Ультрафильтрация, нанофильтрация и обратный осмос применяются для выделения высокомолекулярных соединений (белков, полипептидов, полинуклеотидов). Обратный осмос и нанофильтрация позволяют отделять даже небольшие по размеру молекулы.

Центрифугирование, ультрацентрифугирование используют для выделения вирусов, клеточных органелл, высокомолекулярных соединений.

Вопросы для самоконтроля

- 1) На какие группы делят продукты, получаемые в процессах, основанных на жизнедеятельности микроорганизмов?
- 2) Какие Вам известны методы отделения биомассы от культуральной жидкости?
- 3) Какие Вам известны методы дезинтеграции клеток?
- 4) Какие Вам известны методы выделения продуктов метаболизма и синтеза?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Биотехнология: учебное пособие для вузов, в 8 кн., под ред. Егорова Н.С., Самуилова В.Д. – М., 1987.

2. *Бирюков, В.В.* Основы промышленной биотехнологии / В.В. Бирюков. – М.: КолосС, 2004. – 296 с. – ISBN 5-9532-0231-8 («КолосС»); ISBN 5-98109-008-1 (АНО «Химия»)
3. *Блинов, В.А.* Общая биотехнология: курс лекций. В 2-х частях. Ч. 1 / В.А. Блинов. – Саратов, 2003.
4. *Елинов, Н.П.* Основы биотехнологии / Н.П. Елинов. – СПб.: Наука, 1995. – ISBN 5-02-026027-4

Дополнительная

1. *Клунова, С.М.* Биотехнология: учебник / С.М. Клунова, Т.А. Егорова, Е.А. Живухина. – М.: Академия, 2010. – 256 с. – ISBN 978-5-7695-6697-4
2. *Пшеничникова, А.Б.* Основы биотехнологии: учебное пособие / А.Б. Пшеничникова. – М.: МИТХТ им. М.В. Ломоносова, 2010. – 92 с.
3. *Тарантул, В.З.* Толковый биотехнологический словарь русско-английский: справочное издание / В.З. Тарантул. – М.: Языки славянских культур, 2009. – 936 с.
4. Журналы: Биотехнология, Прикладная биохимия и микробиология, Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунологии, Фармацевтическая промышленность
5. <http://www.biotechnolog.ru>

ПОСТФЕРМЕНТАЦИОННЫЕ СТАДИИ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДСТВ (ЧАСТЬ 2)

9.1. Очистка продукта

На стадии выделения продукта главная задача – отделить основную часть продукта. Получается как бы неочищенный продукт. Поэтому, когда необходимо получать биопродукты тонкой очистки, добавляют еще стадию очистки продукта. Задача этой стадии – убрать примеси, сделать продукт максимально чистым.

Эта задача решается с помощью разнообразных процессов, в числе которых многие из тех, что уже были рассмотрены ранее. Это *экстракция и экстрагирование, адсорбция, ионный обмен, ультрафильтрация и обратный осмос, ректификация и ферментализ.*

Кроме этих процессов используют и следующие.

Хроматография – процесс, напоминающий адсорбцию. На твердом сорбенте собираются растворенные вещества, но не одно, а несколько, часто близких по структуре. Например, смеси белков, нуклеотидов, сахаров, антибиотиков. При адсорбции они и десорбируются вместе, а при хроматографии они выходят из сорбента как бы по очереди, что и позволяет их разделять и, значит, очищать друг от друга.

Диализ – процесс, в котором через полупроницаемую перегородку могут проходить низкомолекулярные вещества, а высокомолекулярные остаются. Путем диализа осуществляют очистку вакцин и ферментов от солей и низкомолекулярных растворимых примесей.

Кристаллизация. Этот процесс базируется на различной растворимости веществ при разных температурах. Медленное охлаждение позволяет формировать кристаллы из растворов целевых продуктов, причем чистота их обычно очень высока. Вся «грязь» остается в маточном растворе. Таким образом, например, получают кристаллы пенициллина.

Еще более чистый продукт можно получить, если кристаллы растворить в воде или растворителе, а потом снова кристаллизовать (т.е. провести процесс *перекристаллизации*).

9.2. Концентрирование продукта

После очистки продукта он часто находится в растворе с небольшими концентрациями примесей. Дальнейшая задача – обеспечить его концентрирование.

На выходе из биотехнологической стадии суспензия обычно содержит целевого продукта примерно 0,1 - 1 %, после стадии отделения биомассы – 0,1 - 2 %, после стадии выделения – 1 - 10 %, после очистки – 50 - 80 %, и, наконец, после концентрирования – 90 - 100 %.

На стадии концентрирования применяют такие процессы, как *выпаривание, сушка, осаждение, кристаллизация с фильтрацией полученных кристаллов, ультрафильтрация и гиперфильтрация или нанофильтрация*, обеспечивающие как бы «отжим» растворителя из раствора.

9.3. Получение готовой формы продукта

Получение готовой формы продукта. На завершающей стадии производства продукт приобретает товарную форму за счет проведения процессов *гранулирования* (формирование гранул из порошка или прямо из раствора), *дражжирования*, *таблетирования* (формирование драже, таблеток), *розда* или *фасовки*, *ампулирования* (затаривания в ампулы).

Вопросы для самоконтроля

- 1) Перечислите способы очистки продукта.
- 2) Хроматография, диализ и кристаллизация как способы очистки продукта.
- 3) Какие процессы применяют для концентрирования продукта?
- 4) Варианты получения готовой формы продукта.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Биотехнология: учебное пособие для вузов, в 8 кн., под ред. Егорова Н.С., Самуилова В.Д. – М., 1987.
2. *Бирюков, В.В.* Основы промышленной биотехнологии / В.В. Бирюков. – М.: КолосС, 2004. – 296 с. – ISBN 5-9532-0231-8 («КолосС»); ISBN 5-98109-008-1 (АНО «Химия»)
3. *Блинов, В.А.* Общая биотехнология: курс лекций. В 2-х частях. Ч. 1 / В.А. Блинов. – Саратов, 2003.
4. *Елинов, Н.П.* Основы биотехнологии / Н.П. Елинов. – СПб.: Наука, 1995. – ISBN 5-02-026027-4

Дополнительная

1. *Клунова, С.М.* Биотехнология: учебник / С.М. Клунова, Т.А. Егорова, Е.А. Живухина. – М.: Академия, 2010. – 256 с. – ISBN 978-5-7695-6697-4
2. Основы биотехнологических процессов: Учебно-методическое пособие по биотехнологии. Часть III. Концентрирование и высушивание биопрепаратов / И.В. Тихонов и др. – М.: МГАВМиБ, 2001. – 49 с.
3. *Пшеничникова, А.Б.* Основы биотехнологии: учебное пособие / А.Б. Пшеничникова. – М.: МИТХТ им. М.В. Ломоносова, 2010. – 92 с.
4. *Тарантул, В.З.* Толковый биотехнологический словарь русско-английский: справочное издание / В.З. Тарантул. – М.: Языки славянских культур, 2009. – 936 с.
5. Журналы: Биотехнология, Прикладная биохимия и микробиология, Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунологии, Фармацевтическая промышленность
6. <http://www.biotechnolog.ru>

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Безбородов, А.М.* Микробиологический синтез / А.М. Безбородов, Г.И. Квеситадзе. – СПб: Проспект Науки, 2011. – 144 с. – ISBN 978-5-903090-52-5
2. Биотехнология: учебное пособие для вузов, в 8 кн., под ред. Егорова Н.С., Самуилова В.Д. – М., 1987.
3. *Бирюков, В.В.* Основы промышленной биотехнологии / В.В. Бирюков. – М.: КолосС, 2004. – 296 с. – ISBN 5-9532-0231-8 («КолосС»); ISBN 5-98109-008-1 (АНО «Химия»)
4. *Блинов, В.А.* Общая биотехнология: курс лекций. В 2-х частях. Ч. 1 / В.А. Блинов. – Саратов, 2003.
5. *Глик, Б.* Молекулярная биотехнология. Принципы и применение / Б. Глик, Дж. Пастернак. – М.: Мир, 2002. – 592 с. – ISBN: 5-03-003328-9
6. *Елинов, Н.П.* Основы биотехнологии / Н.П. Елинов. – СПб.: Наука, 1995. – ISBN 5-02-026027-4
7. *Клунова, С.М.* Биотехнология: учебник / С.М. Клунова, Т.А. Егорова, Е.А. Живухина. – М.: Академия, 2010. – 256 с. – ISBN 978-5-7695-6697-4
8. Комплексная программа развития биотехнологий в Российской Федерации на период до 2020 года / утверждено председателем правительства Российской Федерации В. Путиным 24 апреля 2012 г. № 1853п-П8. – М., 2012. – 76 с.
9. *Никитина Е.В.* Микробиология: учебник/ Е.В. Никитина, С.Н. Киямова, О.А. Решетник. – СПб.: ГИОРД, 2009. – 368 с. – ISBN 978-5-98879-075-4
10. Общая и фармацевтическая биотехнология: учебное пособие. – Самара: НОУ ВПО СМИ «РЕАВИЗ», 2012. – 118 с.
11. Основы биотехнологических процессов: Учебно-методическое пособие по биотехнологии. Часть III. Концентрирование и высушивание биопрепаратов / И.В. Тихонов и др. – М.: МГАВМиБ, 2001. – 49 с.
12. Основы биотехнологических процессов: Учебно-методическое пособие по биотехнологии. Часть II. Способы культивирования микроорганизмов / И.В. Тихонов. – М.: МГАВМиБ им. К.И. Скрябина, 2001. – 58 с.
13. Основы биотехнологических процессов: Учебно-методическое пособие по биотехнологии. Часть I. Способы поддержания асептических условий при культивировании / И.В. Тихонов. – М.: МГАВМиБ, 2001. – 31 с.
14. *Пшеничникова, А.Б.* Основы биотехнологии: учебное пособие / А.Б. Пшеничникова. – М.: МИТХТ им. М.В. Ломоносова, 2010. – 92 с.
15. Рабочие материалы к стратегии развития биотехнологической отрасли промышленности до 2020 года / Общество биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова. Союз предприятий биотехнологической отрасли. – М., 2009. – 85 с.
16. Сельскохозяйственная биотехнология / Шевелуха В.С. и др. – М.: Высшая школа, 2003. – 427 с. – ISBN: 5-06-004264-2
17. *Тарантул, В.З.* Толковый биотехнологический словарь русско-английский: справочное издание / В.З. Тарантул. – М.: Языки славянских культур, 2009. – 936 с.
18. Тенденции развития промышленного применения биотехнологий в Российской Федерации / Институт биохимии им. Н.А. Баха РАН. – М., 2011. – 323 с.
19. Журналы: Биотехнология, Вестник СГАУ, Прикладная биохимия и микробиология, Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунологии, Фармацевтическая промышленность, Кондитерское и хлебопекарное производство, Масложировая промышленность, Молочная промышленность, Переработка молока, Мясные технологии, Сыроделие и маслоделие, Пиво и напитки, Пищевая технология.
20. <http://www.biotechnolog.ru>
21. Биотехнологический портал Bio-X (ссылка доступа - <http://bio-x.ru>)
22. Интернет-журнал «Коммерческая биотехнология» (ссылка доступа – <http://cbio.ru>)
23. On-line-журнал «Биотехнология. Теория и практика» (ссылка доступа – <http://www.biotechlink.org>)

СОДЕРЖАНИЕ

| | |
|--|-----------|
| Введение..... | 3 |
| Лекция 1. Биотехнология как наука..... | 4 |
| 1.1. Цель, задачи и предмет биотехнологии..... | 4 |
| 1.2. Этапы истории развития биотехнологии..... | 5 |
| 1.3. Преимущества биотехнологических процессов..... | 6 |
| Вопросы для самоконтроля..... | 6 |
| Список литературы..... | 7 |
| Лекция 2. Основные объекты и методы биотехнологии..... | 8 |
| 2.1. Классификация живых организмов..... | 8 |
| 2.2. Вирусы..... | 9 |
| 2.3. Бактерии..... | 9 |
| 2.4. Грибы..... | 9 |
| 2.5. Клетки растений и животных..... | 10 |
| 2.6. Методы биотехнологии..... | 11 |
| Вопросы для самоконтроля..... | 11 |
| Список литературы..... | 12 |
| Лекция 3. Значение биотехнологии для различных областей народного хозяйства..... | 13 |
| 3.1. Биотехнология в животноводстве и ветеринарии..... | 13 |
| 3.2. Биотехнология в растениеводстве..... | 13 |
| 3.3. Биотехнология в пищевой промышленности..... | 14 |
| 3.4. Экологическая биотехнология..... | 15 |
| 3.5. Биотехнология в медицине..... | 15 |
| 3.6. Биотехнология и энергетика..... | 16 |
| 3.7. Другие приложения биотехнологии..... | 16 |
| Вопросы для самоконтроля..... | 17 |
| Список литературы..... | 17 |
| Лекция 4. Сырьевая база биотехнологии..... | 19 |
| 4.1. Классификация сырья и питательных субстратов..... | 19 |
| 4.2. Источники углеродного питания..... | 19 |
| 4.3. Источники азотного питания..... | 20 |
| 4.4. Другие виды сырья..... | 21 |
| 4.5. Принципы составления рецептур питательных сред..... | 22 |
| 4.6. Оптимизация ферментационных сред..... | 23 |
| Вопросы для самоконтроля..... | 24 |
| Список литературы..... | 24 |
| Лекция 5. Подготовительные и вспомогательные стадии биотехнологических производств (часть 1)..... | 26 |
| 5.1. Общая характеристика подготовительных стадий..... | 26 |
| 5.2. Основы приготовления питательных сред..... | 26 |
| 5.3. Получение и подготовка посевного материала..... | 27 |
| Вопросы для самоконтроля..... | 28 |
| Список литературы..... | 28 |
| Лекция 6. Подготовительные и вспомогательные стадии биотехнологических производств (часть 2)..... | 29 |
| 6.1. Стерилизация питательных сред, оборудования и воздуха..... | 29 |

| | |
|--|-----------|
| 6.2. Очистка отработанного воздуха..... | 30 |
| Вопросы для самоконтроля..... | 31 |
| Список литературы..... | 31 |
| Лекция 7. Собственно биотехнологическая стадия..... | 33 |
| 7.1. Способы получения целевого продукта на биотехнологической стадии... | 33 |
| 7.2. Стадии и кинетика роста микроорганизмов..... | 34 |
| 7.3. Классификация процессов ферментации..... | 36 |
| 7.4. Кинетические характеристики процесса ферментации..... | 37 |
| 7.5. Макростехиометрические характеристики процесса ферментации..... | 41 |
| Вопросы для самоконтроля..... | 43 |
| Список литературы..... | 43 |
| Лекция 8. Постферментационные стадии биотехнологических производств (часть 1) | 45 |
| 8.1. Отделение биомассы от культуральной жидкости..... | 45 |
| 8.2. Дезинтеграция клеток..... | 45 |
| 8.3. Выделение продуктов метаболизма и синтеза..... | 46 |
| Вопросы для самоконтроля..... | 46 |
| Список литературы..... | 46 |
| Лекция 9. Постферментационные стадии биотехнологических производств (часть 2) | 49 |
| 9.1. Очистка продукта..... | 49 |
| 9.2. Концентрирование продукта..... | 49 |
| 9.3. Получение готовой формы продукта..... | 49 |
| Вопросы для самоконтроля..... | 49 |
| Список литературы..... | 49 |
| Библиографический список..... | 50 |
| Содержание..... | 51 |