

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Саратовский государственный аграрный университет
имени Н.И. Вавилова»

Биотехнология
краткий курс лекций

для студентов IV курса

Направления подготовки
19.03.02 Продукты питания из растительного сырья

Профиль подготовки
Технология хлеба, кондитерских и макаронных изделий

Введение

Биотехнология как наука является важнейшим разделом современной биологии, которая, как и физика, стала в конце XX в. одним из ведущих приоритетов в мировой науке и экономике. Современные биотехнологические процессы основаны на методах рекомбинантных ДНК, а также на использовании иммобилизованных ферментов, клеток или клеточных органелл. Современная биотехнология – это наука о генно-инженерных и клеточных методах и технологиях создания и использования генетически трансформированных биологических объектов для интенсификации производства или получения новых видов продуктов различного назначения.

Краткий курс лекций по дисциплине «Биотехнология» предназначен для студентов направления подготовки 19.03.02 Продукты питания из растительного сырья. Он раскрывает основы клеточной и генной инженерии, промышленной, сельскохозяйственной и медицинской биотехнологии, изучает основные объекты и методы исследования в биотехнологии, технологии продуктов питания нового поколения. Курс направлен на формирование профессиональной компетенции: «Способностью использовать в практической деятельности специализированные знания фундаментальных разделов физики, химии, биохимии, математики для освоения физических, химических, биохимических, биотехнологических, микробиологических, теплофизических процессов, происходящих при производстве продуктов питания из растительного сырья» (ПК-5).

Лекция 1

БИОТЕХНОЛОГИЯ В ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

1.1. Основные объекты и методы биотехнологии

Биотехнология – самая перспективная наука XXI века. Она интегрируется со многими дисциплинами, а базируется на биологической химии, микробиологии и инженерных науках. Совокупность этих наук позволяет биотехнологии использовать способность микроорганизмов, культур клеток, тканей и их составных частей для биосинтеза соединений практически важных для жизнедеятельности человека. Впервые термин биотехнология предложил в 1917 г. венгерский инженер К. Эреки для описания процесса крупномасштабного выращивания свиней, потреблявших в качестве корма сахарную свеклу. По его мнению, биотехнология – это «все виды работ, при которых из сырьевых материалов с помощью живых организмов производятся те или иные продукты». В настоящее время это представление существенно изменилось. *Биотехнология* представляет собой совокупность промышленных методов, использующих живые организмы и биологические процессы для производства различных продуктов (акад. А.А. Баев).

Биотехнология, в сущности, не что иное, как использование культур клеток бактерий, дрожжей, животных или растений, метаболизм и биосинтетические возможности которых обеспечивают выработку специфических веществ (Сассон А.).

Сельское хозяйство – одна из главных отраслей материального производства. Основными направлениями сельского хозяйства являются возделывание сельскохозяйственных культур и разведение сельскохозяйственных животных для получения достаточной продукции растениеводства и животноводства. Сельское хозяйство обеспечивает также различные виды переработки растительных и животных продуктов. В этой отрасли хозяйства страны в настоящее время имеются большие трудности и сложные проблемы.

Как известно, около половины всего заготавливаемого зерна идет как корм на животноводческие фермы. Фуражное зерно можно расходовать значительно экономичнее, если повысить в нем содержание белка и других кормовых добавок, улучшающих обмен веществ. У нас в стране ежегодно выпускается свыше миллиона тонн микробных белковых препаратов, содержащих более 50% протеина, что позволяет повысить питательную ценность почти 20 миллионов тонн зерновых кормов. В основном это дрожжи, выращиваемые на различных дешевых питательных средах. Добавка тонны дрожжей в зерновой рацион птиц позволяет дополнительно получить 1-1,5 т мяса или 25-30 тыс. яиц, в свиноводстве – 0,4-0,6 т мяса, сохраняя при этом около 5-7 т фуражного зерна. Сейчас, когда наука научилась управлять тонкими биотехнологическими процессами, пищевые аминокислоты становятся обычными приправами, как соль и горчица. Итак, благодаря биотехнологии сельское хозяйство обеспечивается высокопитательными кормовыми добавками, созданными на основе дрожжей, грибов или микроорганизмов. Из отходов сельскохозяйственного производства получают различные, в т.ч. незаменимые аминокислоты, спирты, органические кислоты, ферменты и т.д.

Огромное разнообразие живых существ можно разделить на три надцарства: акариоты, прокариоты и эукариоты. Акариоты – к ним относятся организованные частицы: вирусы и вириды, которых можно назвать живыми условно. Они лишены какого-либо одного нуклеиновых кислот, безъядерны и не способны функционировать вне живой клетки. Прокариоты также не имеют оформленного ядра и типичного хромосомного аппарата. Наследственная информация у них передается либо через ДНК, либо через РНК, у них

отсутствует типичный половой процесс. К прокариотам относятся бактерии, сине-зеленые водоросли (цианобактерии), риккетсии, микоплазмы. Эукариоты, в отличие от прокариот, обладают оформленным клеточным ядром, которое отграничено от цитоплазмы мембраны, а их генетический материал заключен в хромосомах. Клетки эукариот имеют митохондрии, пластиды и другие органеллы, для них характерен половой процесс. К эукариотам относятся клетки грибов, водорослей, растений и животных.

Все микроорганизмы можно разделить на две крупные группы: автотрофные – они способны синтезировать органические вещества из диоксида углерода в процессе хемотрофии или фотосинтеза и гетеротрофы – для их существования необходимы уже готовые органические вещества.

Основными объектами биотехнологии являются вирусы, бактерии, грибы (микро- и макромицеты), протозойные организмы, клетки, ткани растений, животных и человека, а также некоторые биогенные и функционально сходные с ними вещества (ферменты, простагландины, лектины и др.). В настоящее время основным биообъектом биотехнологии являются прокариоты. Они могут находиться в трех состояниях. Анабиоз – организмы выживают, но не размножаются в конкретных условиях; метабиоз – организмы растут, размножаются и развиваются в среде обитания; абиоз – организмы погибают в ассоциации или вне ее. Взаимоотношения между микробами называются микробоценозы, между микробами и растениями, микробами и животными – биоценозами, между микробами и почвой – биогеоценозами.

Биообъекты могут вступать между собой в различные взаимосвязи. Различают симбиоз и антибиоз. В процессе симбиоза могут быть следующие взаимосвязи. Комменсализм – один вид живет за счет другого, не причиняя ему вреда, например, аэробные и анаэробные микроорганизмы; в пищеварительном тракте грибок пеницилл и кишечная палочка, вырабатывающая пенициллиназу. Мутуализм – оба ассоциата помогают друг другу в среде обитания, например, лишайники и цианобактерии являются партнерами; сосуществование микробов в рубце жвачных и микрофлоры кишечника человека. Нейтрализм – биообъекты не влияют друг на друга. Так, молочнокислые бактерии и молочнокислые стрептококки йогурта не влияют на скорость роста друг друга. Паразитизм – один объект живет и размножается за счет другого, нанося ему вред, например, поражение растений, животных и человека различными вирусами; комнатных мух грибами *Empusamuscae*.

Термин антибиоз употребляется в том случае, если один биообъект ингибирует развитие другого или убивает его своими метаболитами. Причем антибиоз может быть односторонним (спонтанным) или двусторонним, при этом оба ассоциата тормозят развитие или убивают друг друга. В качестве примера антибиоза можно привести действие фитонцидов, растительных биологически активных веществ, убивающих или подавляющих рост и развитие микроорганизмов. Другой пример – угнетение стрептомицетами роста друг друга. Вариантом антибиоза является аутоантибиоз. При этом один вид или ассоциация видов образует метаболиты, которые тормозят развитие или убивают их продуцент. Например, молочнокислые кокки и бактерии производят молочную кислоту, но погибают от ее избытка. Другой пример, дрожжи, образующие спирт, погибают если концентрация этанола в среде достигает 15%.

Методы, используемые в биотехнологии, могут быть общими, специальными или специфическими. Общим относятся методы органической, физической, коллоидной или биологической химии, микробиологии, цитологии, физиологии и других дисциплин. Это определение окислительно-восстановительного потенциала, электропроводности, рН, концентрации кислорода, диоксида углерода, аммиака, аминокислот и органических кислот, глюкозы, активности ферментов и многих других параметров. К специальным относят крупномасштабное глубинное культивирование биообъектов в периодическом, полунепрерывном и непрерывном режиме.

Специфическими методами биотехнологии являются методы генетической и клеточной инженерии. Генетическая инженерия – это методы получения рекомбинантных ДНК, объединяющих последовательности нуклеотидов разного происхождения. В генетической инженерии выделяют генную, геномную и хромосомную инженерию.

Важным методом новой биотехнологии является клеточная инженерия. Это создание ранее неизвестных клеточных систем с новыми свойствами на основе клеточных взаимодействий.

1.2. Значение биотехнологии для различных отраслей народного хозяйства. Биотехнология в пищевой промышленности.

Биотехнологическая продукция успешно завоевывает рынок. Для ещё большей целесообразности производства такой продукции необходимо обеспечить оптимальные условия для синтеза целевого продукта клетками биообъекта и вести производство в максимально-экономичном режиме. Для выполнения последнего условия следует соблюдать указанные ниже принципы:

- принцип экономической обоснованности, например, получение L-лизина из смеси D,L-лизина;
- принцип целесообразного уровня технологических разработок. Пример: для получения биогаза не нужны чистые культуры;
- принцип научной обоснованности;
- принцип удешевления производства, например использование «даровой» энергии Солнца, природных водоемов и т. д.

В настоящее время приемы биотехнологии широко используются в пищевой промышленности (новые технологии для длительного хранения продуктов, производство пищевых приправ, создание более совершенных по вкусовым и питательным качествам молочных и мясных продуктов, сыров, крупномасштабное выращивание дрожжей, водорослей и бактерий для получения белков, аминокислот, органических кислот, витаминов, ферментов и др.). Биотехнология открыла новую страницу сельского хозяйства (клонирование и отбор растений с нужными признаками, получение биоинсектицидов, клубнеобразующих бактерий, выведение новых высокопродуктивных пород животных и пр.). Особую значимость биотехнология имеет для здравоохранения (методы точной диагностики, эффективного лечения и предупреждения старости), фармацевтической (создание нового поколения лекарств, в т.ч. вакцин, антибиотиков, гормонов, интерферонов, интерлейкинов и др.) и микробиологической (выведение высокоэффективных штаммов бактерий для производства пищевого и кормового белка, глюкозы, фруктозы и пр.) промышленности. Резко возрастает роль биотехнологии в уменьшении загрязнения окружающей среды (очистка сточных вод, переработка отходов и побочных продуктов сельского хозяйства и промышленности).

Таблица 1 - Схематическое распределение основных продуктов биотехнологии

Технология	Здравоохранение	Сельскохозяйственное производство и производство продуктов питания	Сельское хозяйство	Энергетика	Химическая промышленность
Сбраживание	Антибиотики Витамины Ферменты Аминокислоты Нуклеотиды	Лимонная кислота Аминокислоты Нуклеотиды Ферменты	Биопестициды	Этанол Ацетобу- таноловая смесь Биогаз	Химия Этанол Этилен Уксусный альдегид

	Стероиды Алкалоиды Диагностические препараты	Биополимеры			Ацетон Бутанол Бутадиен
Энзиматическая инженерия		Фруктозо- глюкозный сироп. Глюкозный сироп		Этанол	
Техника рекомбинации ДНК или генетическая инженерия	Интерфероны, гормоны, вакцины				
Культуры клеток	Интерфероны, вакцины, компоненты крови, МКА		Кормовой белок одноклеточ- ных. Клоны		

Вопросы для самоконтроля

- 1) Определение биотехнологии. Примеры использования биотехнологических подходов в решении проблем сельского хозяйства, зоотехнии, ветеринарии.
- 2) Основные объекты биотехнологии.
- 3) Методы, используемые в биотехнологии.
- 4) Основные продукты биотехнологии, используемые в здравоохранении, сельском хозяйстве, пищевой промышленности, энергетике, химической промышленности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. **Блинов, В.А.** Общая биотехнология / В.А. Блинов. – Саратов: ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ», 2003. – 162с.
2. **Блинов, В.А.** Биотехнология (некоторые проблемы сельскохозяйственной биотехнологии) / В. А. Блинов. – Саратов – Полиграфия Поволжья, 2003. – 196 с.
3. **Орехов, С.Н., Сазыкин, Ю.О., Чакалева, И.И.** Биотехнология: учебное пособие / С.Н. Орехов, Ю.О. Сазыкин, И.И. Чакалева. – М: Электронное издание, 2006.

Дополнительная

1. **Блинов, В.А.** Общая биотехнология в таблицах, рисунках и схемах / В.А. Блинов. – Саратов: Гарнитура Таймс, 2008. – 102 с.
2. **Живухина, Е.А., Егорова, Т.А., Клунова, С.М.** Основы биотехнологии: учебное пособие для высших учебных заведений / Е.А. Живухина, Т.А. Егорова, С.М. Клунова. – М: Издательский центр «Академия», 2003. – 506 с.
3. **Кузьмина, Н.А.** Основы биотехнологии. Учебное пособие для студентов биологического факультета / Н.А. Кузьмина. – Омск: Электронное издание, 2010.

Лекция 2

ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ ПРОМЫШЛЕННОЙ ОРГАНИЗАЦИИ БИОПРОЦЕССОВ

2.1. Основные стадии биотехнологического производства.

Биотехнологическая стадия

Основной стадией биотехнологического производства является собственно биотехнологическая стадия, на которой с использованием того или иного биологического агента (микроорганизмов, изолированных клеток, ферментов или клеточных органелл) происходит преобразование сырья в тот или иной целевой продукт. Обычно главной задачей биотехнологической стадии является получение определенного органического вещества. Однако биотехнологическая стадия, как правило, включает в себя не только синтез новых органических соединений, но и ряд других биотехнологических процессов.

Ферментация – процесс, осуществляемый с помощью культивирования микроорганизмов.

Биотрансформация – процесс изменения химической структуры вещества под действием ферментативной активности клеток микроорганизмов или готовых ферментов. В этом процессе обычно не происходит накопления клеток микроорганизмов, а химическая структура вещества меняется незначительно. Вещество как бы уже в основном готово, биотрансформация осуществляет его химическую модификацию: добавляет или отнимает радикалы, гидроксильные ионы, дегидрирует и т.п.

Биокатализ – химические превращения вещества, протекающие с использованием биокатализаторов-ферментов.

Биоокисление – потребление загрязняющих веществ с помощью микроорганизмов или ассоциации микроорганизмов в аэробных условиях.

Метановое брожение – переработка органических отходов с помощью ассоциации метаногенных микроорганизмов в анаэробных условиях.

Биокомттирование – снижение содержания вредных органических веществ ассоциацией микроорганизмов в твердых отходах, которым придана специальная взрыхленная структура для обеспечения доступа воздуха и равномерного увлажнения.

Биосорбция – сорбция вредных примесей из газов или жидкостей микроорганизмами, обычно закрепленными на специальных твердых носителях.

Бактериальное выщелачивание – процесс перевода нерастворимых в воде соединений металлов в растворенное состояние под действием специальных микроорганизмов.

Биодеградация – деструкция вредных соединений под воздействием микроорганизмов-деструкторов. Обычно биотехнологическая стадия имеет в качестве выходных потоков один жидкостной потоки один газовый, иногда только один - жидкостной.

I. Подготовительные стадии:

1. Приготовление среды
2. Стерилизация среды
3. Подготовка и стерилизация газов (воздуха)
4. Подготовка посевного материала
5. Приготовление биокатализатора
6. Предварительная обработка сырья.

II. Биотехнологические стадии:

1. Ферментация
2. Биотрансформация
3. Биокатализ (реакции с ферментами)

4. Биоокисление
5. Метановое брожение
6. Биокомпостирование
7. Биосорбция
8. Бактериальное выщелачивание
9. Биодеградация

III. Разделение жидкости и биомассы:

1. Отстаивание
2. Фильтрация
3. Сепарация
4. Центрифугирование
5. Микрофильтрация
6. Ультрафильтрация
7. Коагуляция
8. Флотация

IV. Выделение вне-внутриклеточных продуктов:

1. Экстракция и экстрагирование
2. Осаждение Центрифугирование
3. Адсорбция
4. Ионный обмен
5. Отгонка, ректификация
6. Дезинтеграция
7. Гидролиз
8. Ферментолиз
9. Ультрафильтрация

V. Очистка продукта

1. Экстракция
2. Осаждение
3. Адсорбция
4. Ионный обмен
5. Хроматография
6. Диализ
7. Ультрафильтрация
8. Обратный осмос
9. Ферментолиз
10. Кристаллизация
11. Ректификация

VI. Концентрирование продукта

1. Выпаривание
2. Сушка
3. Осаждение
4. Кристаллизация
5. Фильтрация
6. Ультрафильтрация
7. Нанофильтрация

VII. Изготовление готовой формы продукта

1. Гранулирование

2. Дражирование
3. Таблетирование
4. Розлив
5. Фасовка
6. Ампулирование

2.2. Подготовительная стадия

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. Очевидно, что для проведения микробиологического процесса или процесса культивирования изолированных клеток растений или животных необходимо подготовить и посевной материал – предварительно выращенное малое по сравнению с основной стадией количество биологического агента.

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.

2.3. Разделение жидкости и биомассы

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 мицеллиальный 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 уже 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.

2.4. Выделение продуктов биосинтеза

Эта стадия имеет определенные отличия, связанные с тем, являются продукты внеклеточными или внутриклеточными.

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

Дезинтеграция клеток – это процесс разрушения клеточной оболочки, который 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.

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

Автолиз – разновидность ферментализа, когда используют собственные ферменты клетки.

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.

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

2.5. Очистка продукта

На стадии выделения продукта главная задача – отделить основную часть продукта. Но если необходимо получать биопродукты высокой кондиции, 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 вот 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. Можно даже получить еще более чистый продукт, если кристаллы растворить в воде или растворителе, а потом снова кристаллизовать (т.е. провести процесс *перекристаллизации*).

2.6. Концентрирование продукта

После очистки продукта он часто находится в растворе с небольшими концентрациями примесей. Дальнейшая задача – обеспечить его концентрирование. Необходимо рассмотреть, как обычно меняется концентрация целевого продукта от биотехнологической стадии до готовой формы продукта.

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 получившихся кристаллов, ультрафильтрация и гиперфильтрация или нанофильтрация*, обеспечивающие «отжим» растворителя из раствора.

2.7. 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), розлива или фасовки, *ампулирования* (затаривания в ампулы).

2.8. Блок-схемы некоторых биотехнологических производств

Рассмотрим несколько примеров блок-схем производства различных продуктов. Блок-схема отражает последовательность технологических стадий при получении продукта.

На рисунке 2 схематически представлен процесс производства хлеба.

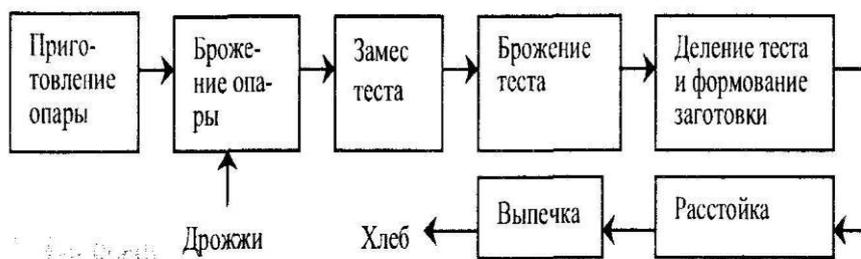


Рисунок 2. Блок-схема производства хлеба

Приготовление опары (суспензии муки в воде) является аналогом приготовления среды в биотехнологических производствах. В опару добавляют дрожжи, и она подвергается брожению. Затем в нее дополнительно вносят муку («замес теста»), и вновь происходит анаэробный биологический процесс брожения. Далее тесто делят на заготовки и они уже в третий раз подвергаются действию дрожжей в процессе, называемом «расстойка». При этом диоксид углерода, образующийся при брожении, увеличивает объем хлеба и создает его пористость. Последующая стадия выпечки закрепляет полученный результат и превращает по существу жидкий полупродукт в твердое тело – хлеб, батон или прочие хлебобулочные изделия.

Производство внутриклеточных ферментов представлено на рисунке 3.

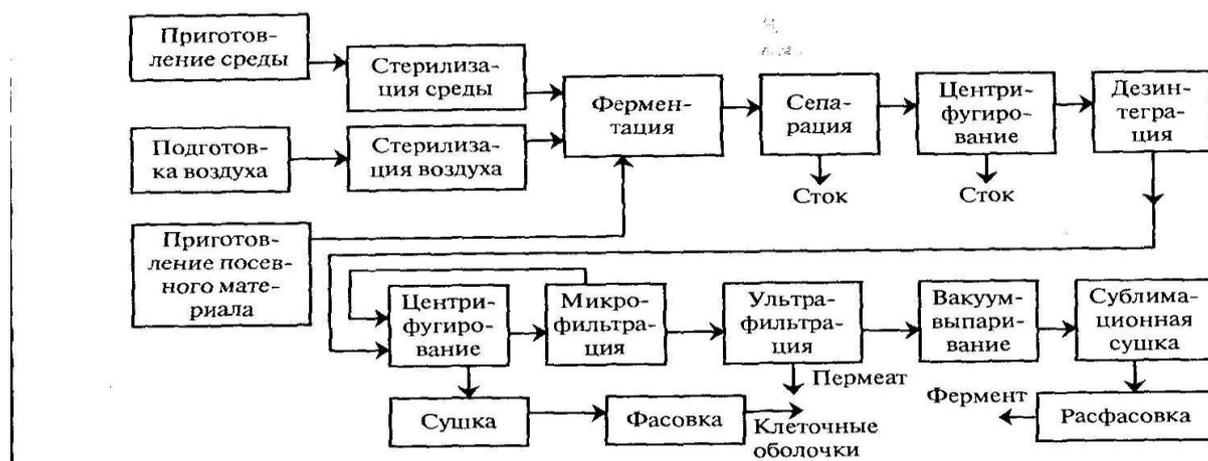


Рисунок 3. Производство внутриклеточных ферментов

Здесь после двух стадий отделения биомассы (сепарации и центрифугирования) появляется стадия дезинтеграции клеток, так как для выделения ферментов необходимо нарушить оболочку клеток. Далее происходит отделение оболочек клеток последовательно сначала на центрифуге, а затем с помощью микрофльтрации, и концентрат оболочек клеток поступает на сушку. Из жидкой фазы путем ультрафльтрации выделяется и концентрируется фермент, который затем высушивается в мягких условиях (сублимационная сушка).

Практически полным биотехнологическим производством является биологическая очистка стоков (рис. 4). Здесь представлено большое число подготовительных стадий (усреднение стоков, их нейтрализация до необходимой величины рН, очистка от механических примесей фильтрованием или отстаиванием, очистка от нефтепродуктов в нефтеловушке, коагуляция реагентами растворенных примесей; отделение образовавшегося осадка отстаиванием).

Подготовленный сток поступает на стадию биоокисления, на которой происходит изъятие растворенных органических веществ активным илом. Это и есть собственно биотехнологическая стадия в аэротенках с подачей воздуха, далее активный ил отделяется от жидкости отстаиванием, и очищенный сток поступает в водоем. Сгущенный активный ил частично возвращается на стадию биоокисления. Избыточное количество активного ила утилизируют одним из трех способов. Первый и самый неэкологичный – распределение на так называемых «иловых площадках», где он долго сушится на открытом воздухе, занимая большие площади и распространяя вокруг запахи. Второй способ предполагает концентрирование ила с помощью флотации. Концентрат активного ила поступает на сушку. Высушенный ил используют в качестве удобрения или кормового продукта — в зависимости от его загрязненности.

И наконец, третий способ: концентрат активного ила перерабатывается метановым брожением в биогаз, а образовавшийся осадок высушивается и также применяется как удобрение.



Рисунок 4. Биологическая очистка стоков

Из рассмотренных схем следует, что биотехнологические производства включают в себя как специфические для биотехнологии стадии (ферментация, биоокисление, биотрансформация, брожение, бактериальное выщелачивание, биокомпостирование, ферментализ, стерилизация среды и воздуха, дезинтеграция микроорганизмов), так и множество стадий, встречающихся и в химической технологии (фильтрация, сепарация, отстаивание, экстракция, сушка, выпаривание, ультрафильтрация и обратный осмос, кристаллизация, ректификация, коагуляция и др.). Эти стадии, конечно, имеют свою специфику в биотехнологических производствах в связи со специфическими физическими и физико-химическими свойствами биологического объекта, его лабильностью и вариабельностью.

Вопросы для самоконтроля

- 1) Перечислите основные стадии биотехнологического производства. Биотехнологическая стадия.
- 2) Какие процессы используют для разделения жидкости и биомассы?
- 3) Дайте определения хроматография, диализ, кристаллизация.
- 4) Поясните блок-схемы производства хлеба, внутриклеточных ферментов, биологической очистки стоков.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. **Бирюков, В.В.** Основы промышленной биотехнологии / В.В. Бирюков. – М.: «Колосс» «Химия», 2004. – 296с.

2. **Егорова, Т.А.** Биотехнология / Т.А. Егорова, Е.А. Живухина, С.М. Клунова. – М.: «Академия», 2010. – 256с.
3. <http://www.cbio.ru/> Интернет-журнал «Коммерческая биотехнология»
4. <http://ru.wikipedia.org/wiki/>

Дополнительная

1. Биотехнология: свершения и надежды: Пер. с англ./Под ред В. Г. Дебабова.— М.: Мир, 1987.—411 с
2. Биотехнология. Принципы и применение: Пер с англ. /Под.ред. И. Хиггинса, Д. Беста и Дж. Джонса. — М: Мир, 1988. —480 с.
3. **Блинов, В.А.** Общая биотехнология. Курс лекций, Ч. 2. / В.А. Блинов;ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ». – Саратов: СГАУ, 2004. – 144 с.
4. **Волова, Т.Г.** Биотехнология (монография) / Т.Г. Волова. – Новосибирск: Изд-во Сибирского отделения Российской Академии наук, 1999. – 252 с.

Лекция 3

ТИПОВЫЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЕМЫ БИОПРОЦЕССОВ

3.1. Биореакторы

Биотехнологические процессы принципиально отличаются от процессов химического синтеза и могут быть двух типов: периодическими и непрерывными. Специфика биотехнологических процессов состоит в том, что в них участвуют живые клетки, субклеточные структуры или выделенные из клеток ферменты и их комплексы. Это оказывает довольно существенное влияние на процессы массопередачи (обмена веществ между различными фазами – перенос кислорода из газообразной фазы в жидкую) и теплообмена (перераспределение тепловой энергии между взаимодействующими фазами). Поэтому одним из важнейших компонентов биореакторов является система перемешивания, обеспечивающая однородность условий в аппарате, оптимальность массопередачи между фазами реактора, между культуральной жидкостью и клетками и т. д. Другим существенным различием между биотехнологическими и химическими процессами является необходимость создания аэробных или анаэробных условий, требуемых для культивирования соответствующего организма. Поэтому в определенных случаях необходимо подавать кислород и удалять образующиеся газообразные продукты иного рода, в первую очередь двуокись углерода (CO_2). Системы аэрации зачастую бывают очень сложной конструкции, поскольку они должны обеспечить баланс между расходом O_2 и его поступлением в нужных количествах, учитывая тот факт, что потребность в кислороде не одинакова на различных стадиях культивирования. Крайне важным является обеспечение должного уровня теплообмена в биореакторах, поскольку жизнедеятельность и метаболическая активность объектов зависит в значительной степени от колебаний температуры. Поддержание температуры в определенном узком диапазоне диктуется:

- 1) резким снижением активности ферментов по мере падения температуры
- 2) необратимой инактивацией (денатурацией) макромолекул (в первую очередь белков) при ее повышении до критических значений. Температурный оптимум у каждого организма лежит в определенных пределах. Большинство биотехнологических процессов осуществляется в мезофильных условиях (30–50 °C). С одной стороны, это имеет преимущество, потому что лишь в редких случаях приходится обеспечивать повышенный подогрев реакторов. Однако, с другой стороны, возникает проблема удаления избыточного тепла, выделяющегося при интенсивном росте культивируемых клеток, поэтому биореактор должен быть оснащен эффективной системой охлаждения. Еще одной серьезной проблемой при культивировании в биореакторах является пенообразование, связанное с необходимостью аэрирования содержимого, в котором постоянно присутствуют поверхностно-активные вещества (ПАВ) продукты распада жиров (мыла) и белки (составные компоненты субстрата например, белки соевой и кукурузной муки и т. п.). Образующийся слой пены опять же, с одной стороны, способствует росту аэробных микроорганизмов, а с другой – сокращает полезный объем реактора и способствует заражению культуры посторонней микрофлорой. Это заставляет интенсивно разрабатывать эффективные системы пеногашения. Специфическим элементом биореактора является система, обеспечивающая стерильность процесса. Стерилизация осуществляется на разных этапах процесса, как до его начала, так и при осуществлении и после окончания. Иными словами, в биотехнологическом производстве важное место отводится принципу асептики, выдвинутому еще в 60-е годы XIX в. Луи Пастером. В последнее время в биотехнологию внедряется принцип дифференцирования режимов культивирования: разные этапы одного и того же процесса осуществляются при различных условиях – температура, pH, аэрация и т. п. Естественно, это создает новые

(дополнительные) требования при конструировании реакторов. Таким образом, в соответствии с основными принципами реализации биотехнологических процессов современные биореакторы должны обладать следующими системами:

- эффективного перемешивания и гомогенизации среды выращивания;
- обеспечения свободной и быстрой диффузии газообразных компонентов системы (аэрирование в первую очередь);
- теплообмена, обеспечивающего поддержание оптимальной температуры внутри реактора и ее контролируемые изменения;
- пеногашения;
- стерилизации сред, воздуха и самой аппаратуры;
- контроля и регулировки процесса и его отдельных этапов.

Биотехнологически ценные продукты синтезируются как в экспоненциальной фазе (нуклеотиды, многие ферменты, витамины - так называемые первичные метаболиты), так и в стационарной фазе роста (антибиотики, пигменты и т. п. так называемые вторичные метаболиты). Довольно широко в биотехнологии используется периодическое культивирование с подпиткой, при котором, помимо первичного внесения питательного субстрата до засева культуры, в процессе культивирования в аппарат через определенные интервалы добавляют питательные вещества либо порциями, либо непрерывно "по каплям". Существует также отъемно-доливочное культивирование, когда часть содержимого биореактора периодически изымается и добавляется равное количество питательной среды. Такой прием обеспечивает регулярное "омолаживание" (обновление) культуры и задерживает (отдаляет) ее переход в фазу отмирания. Этот прием иногда называется полунепрерывным культивированием. Модификацией периодического культивирования является культивирование с диализом, при котором питательный субстрат постоянно поступает в реактор через специальную мембрану. Диализ ведет к снижению концентрации продуктов жизнедеятельности клеток, неблагоприятно влияющих на их жизнеспособность. Помимо этого, диализ удаляет из культуры часть жидкости, что позволяет получать в конце процесса концентрированную биомассу.

В непрерывных процессах культивирования клетки постоянно поддерживаются в экспоненциальной фазе роста. С этой целью в биореактор непрерывно подается свежая питательная среда и обеспечивается отток из него культуральной жидкости, содержащей клетки и продукты их жизнедеятельности. Основным принципом непрерывных процессов (как уже отмечалось выше) является точное соблюдение равновесия между приростом биомассы вследствие деления клеток и их убылью в результате разбавления содержимого свежей средой. Различают хемостатный и турбидостатный режимы непрерывного культивирования. При хемостатном режиме культивирования саморегулируемая система возникает в силу следующих причин: если первоначальное поступление свежей питательной среды и вымывание биомассы превышает скорость деления клеток, то в результате разбавления культуры снижается концентрация веществ, ограничивающих ростовые процессы и скорость роста культуры повышается; увеличивающаяся популяция начинает активнее "выедать" субстрат, что в свою очередь приводит к торможению роста культуры. Конечным итогом этих процессов является (после серии затухающих колебаний) установление равновесия между скоростью роста культуры и ее разбавлением.

3.2. Хемостат и турбидостат

Биореактор, работающий в хемостатном режиме культивирования, называют хемостатом. Его конструкция предусматривает наличие:

- 1) приспособления для подачи питательной среды;
- 2) устройства, обеспечивающего отток культуральной жидкости вместе с клетками;
- 3) системы, контролирующей концентрацию элементов питательной среды и управляющей скоростью подачи питательной среды.

Последнее является наиболее важным и наиболее сложно осуществимым устройством.

Турбидостатный режим культивирования базируется на прямом контроле концентрации биомассы. Наиболее распространенным методом ее определения является измерение светорассеивания с помощью фотоэлементов. Повышение концентрации клеток и соответственно оптической плотности автоматически ускоряет проток жидкости и наоборот. По своей конструкции турбидостаты отличаются от хемостатов лишь системами контроля скорости протока. Хемостаты применяются в процессах, характеризующихся малым протоком, когда концентрация клеток изменяется незначительно с изменением скорости протока, что облегчает саморегулировку системы. Область использования турбидостатов – высокие скорости разбавления, обуславливающие быстрое и резкое изменение концентрации биомассы. С технической точки зрения турбидостат может применяться только для культивирования одноклеточных микроорганизмов. При длительном культивировании в турбидостате возникает довольно серьезная проблема, связанная с прилипанием клеток к фотоэлементу. Однако имеются и определенные преимущества. Так, например, если засеивается смешанная культура, то в турбидостате автоматически отбирается более быстро растущий вид, что может использоваться для предохранения от массивного заражения посторонней микрофлорой (если, конечно, она растет медленнее) и селекции определенных форм. Непрерывное культивирование в одном биореакторе называется одностадийным. Многостадийное выращивание предусматривает последовательное или каскадное расположение биореакторов, позволяющее обеспечивать внедрение принципа дифференцированных режимов в непрерывные биотехнологические процессы, основанные на создании системы биореакторов. При разработке новых биотехнологических процессов сначала прибегают к периодическому культивированию. На непрерывный режим пока еще переведено небольшое число процессов, однако перспективность его не вызывает сомнений, несмотря на более сложные конструкции аппаратов и систем контроля (иными словами, на более солидные капиталовложения). Конечно, и периодическое культивирование еще не исчерпало своих возможностей. Пока что выбор режима (периодическое или непрерывное культивирование) подчиняется (да и будет подчиняться в дальнейшем) соображениям экономической целесообразности.

3.3. Открытые и замкнутые ферментационные системы

В практике современной промышленной биотехнологии существует три главных типа биореакторов и две формы биокатализаторов. Биореакторы могут функционировать на основе разовой (однократной), восполняемой (неполностью) и непрерывной (продолженной) загрузки. А в самих реакторах культуры могут быть статическими и перемешивающимися, находиться в присутствии кислорода (аэробы) или без него (анаэробы), а также в водной фазе или условиях низкого увлажнения.

Биокатализаторы (цельные клетки или ферменты) могут быть свободными или иммобилизованными путем прикрепления к поверхности биореактора или к специальным устройствам. Обычно реакции, протекающие в ферменторах, осуществляются при умеренных значениях pH (около нейтрального) и температуры (от 20 до 60 °C). При многих биотехнологических процессах конечные продукты метаболизма (так называемые целевые продукты) накапливаются в низких концентрациях в растворимой фазе (в водной среде) и требуют сепарации, прежде чем будут направлены на реализацию. Биореакторные системы для выращивания микроорганизмов могут быть классифицированы как "замкнутые" и "открытые". Система рассматривается в качестве замкнутой, когда многие компоненты данной системы не могут быть из нее удалены или добавлены. Так, например, в традиционных однократных (т. е. замкнутых) ферментационных системах все питательные компоненты добавляются в начале ферментации и, как результат этого, скорость роста, находящегося в таких условиях

организма, в конечном счете будет снижена до нуля вследствие уменьшения количества питательных веществ или накопления токсических продуктов отхода метаболизма. Системы, функционирующие в таких условиях, называются как batch-системы (замкнутые системы). Большинство современных биотехнологических систем функционируют как batch-процессы, при которых однажды оптимизированные условия обеспечивают максимальное накопление целевого (требуемого) продукта, например, приготовление пива, производство антибиотиков и ферментов и т. п. Модификацией процесса с разовой загрузкой является возобновляемая ферментация (feed batch – от feed-насыщающий), при которой количество питательного вещества может быть добавлено в ходе ферментации с целью восполнения частично израсходованного субстрата или для активации процесса. Однако в своей принципиальной основе подобные системы остаются замкнутыми, поскольку у них нет постоянного оттока содержимого. В противоположность этому, ферментационная система, рассматривается как открытая, если ее компоненты (микроорганизмы и питательные субстраты) могут постоянно добавляться и удаляться из биореактора. Такие ферментеры оснащены приспособлениями, постоянно подающими свежую питательную среду и удаляющими биомассу и другие продукты. В таких системах скорость конверсии субстрата в биомассу или в целевой продукт должна быть точно сбалансирована со скоростью поступления вышеуказанных компонентов, что обеспечивает устойчивое состояние метаболических процессов в реакторе. Хотя непрерывные процессы приобрели широкое практическое применение в лабораторных условиях (масштабах), лишь немногие из них используются в промышленности. Однако непрерывные процессы довольно широко практикуются в производстве одноклеточного белка; например, продукция ICI Prutin на метаноле и производство микопротеина компанией Rank Hovis McDougall.

Вопросы для самоконтроля

- 1) Различия между биотехнологическими и химическими процессами.
- 2) Системы, которыми должен обладать современный биореактор.
- 3) Устройство хемостата и турбидостата.
- 4) Открытые и замкнутые ферментационные системы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. **Блинов, В.А.** Биотехнология (некоторые проблемы сельскохозяйственной биотехнологии)/В.А. Блинов. – Саратов: ОГУП РИК «Полиграфия Поволжья», 2003. – 196 с.
2. **Глик, Б.** Молекулярная биотехнология. Принципы и применение / Б.Глик, Дж.Пастернак. – М, 2002. — 720 с.
3. **Евтушенко, А.Н.** Введение в биотехнологию (курс лекций) / А.Н. Евтушенко, Ю.К. Фомичев. – Мн.: БГУ, 2002. – 105 с.
4. **Егорова, Т. А.** Основы биотехнологии / Т.А.Егорова, С.М.Клунова, Е.А.Живухина. — М.: Издательский центр «Академия», 2003. — 208 с.

Дополнительная

1. Биотехнология: свершения и надежды/Под ред В. Г. Дебабова. — М.: Мир, 1987.— 411 с.
2. Биотехнология. Принципы и применение /Под ред. И. Хиггинса, Д. Беста и Дж. Джонса. — М: Мир, 1988. — 480 с.
3. **Блинов, В.А.** Общая биотехнология. Курс лекций, Ч. 1.\В.А.Блинов. – Саратов:СГАУ, 2003. – 161 с.
4. **Блинов, В.А.** Общая биотехнология. Курс лекций, Ч. 2. \В.А.Блинов. – Саратов:СГАУ, 2004. – 144 с.

Лекция 4

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ BIOTEХНОЛОГИИ

4.1. Основные типы биотехнологических процессов

В настоящее время существуют следующие основные типы биопроцессов:

- производство биомассы (например, белок одноклеточных);
- клеточных компонентов (ферменты, нуклеиновые кислоты и т.д.)
- метаболитов (химические продукты метаболической активности), включая первичные метаболиты, такие как этанол, молочная кислота;
- вторичные метаболиты;
- односубстратные конверсии (превращение глюкозы во фруктозу);
- многосубстратные конверсии (обработка сточных вод, утилизация лигноцеллюлозных отходов).

4.2. Проблемы технологии приготовления питательных сред для биосинтеза

Основу питательных сред для культивирования микроорганизмов составляют источники углерода. Также 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 (засевная доза микроорганизмов) 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.

Важнейшим элементом приготовления питательных сред является соблюдение *требований асептики*. Это либо создание заданного значения рН, обеспечивающего подавление посторонних микроорганизмов, либо полная стерилизация всех подаваемых потоков и самого биореактора.

Для стерилизации газовых потоков (в первую очередь воздуха) 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. Жидкостные потоки стерилизуют различными методами, из которых практический интерес представляют термический при температурах 120-150°C, радиационный (γ -излучение, применяется редко из-за трудностей создания и эксплуатации мощных источников этого излучения), фильтрационный и химический.

Иногда применяют химические стерилизующие агенты (вещества с ярко выраженным асептическим действием). Основная проблема в этом случае - необходимость устранения стерилизующего агента из питательной среды после гибели микрофлоры до внесения инокулята. Химические антисептики должны быть не только высокоэффективны, но и легко разлагаемы при изменении условий после завершения стерилизации.

Фильтрационный метод редко используется, что объясняется аппаратными трудностями. Он основан на способности полупроницаемых мембран с крупными порами пропускать жидкую фазу и концентрировать клетки микроорганизмов. Используют для стерилизации термически неустойчивых жидких и газовых средств, поскольку может осуществляться при низкой температуре и требует лишь градиента давления по разные стороны мембраны. Основная трудность - наличие термостойких мембран, способных выдерживать многократную стерилизацию их самих. В настоящее время эта проблема решается путем применения термостойких полимеров в производстве мембран.

В заключение заметим, что 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.

4.3. Контроль и управление биопроцессами

Эффективное проведение биотехнологических процессов тесно связано с совершенствованием способов контроля и управления. В биотехнологии делались отдельные попытки регулировать развитие продуцента с помощью изменений параметров внешней среды. До середины XX века регулирование в основном сводилось к эмпирике, так как без знания сущности происходящего невозможно эффективно контролировать и управлять процессом. В основном, объектом управления того периода была экстенсивная периодическая культура микроорганизмов со всеми ее недостатками: динамикой состояния продуцента и среды, отсутствием средств контроля. В последние 25 лет с внедрением управляемых культур биотехнологи переходят от простой задачи поддержания определенных параметров среды к управлению процессом в целом. Для реализации управляемого культивирования необходимо построение алгоритмов управления, основанных на моделях биотехнологического процесса. В современных биотехнологических процессах необходимо регистрировать и анализировать множество быстроизменяющихся факторов (концентрацию субстрата, биомассы и продукта в культуре, pH, температуру, парциальное давление кислорода и др.). Это вызывает необходимость в применении электронной техники. Первые разработки по применению ЭВМ в биотехнологии относятся к концу 60-х гг. XX века. На первых этапах ЭВМ привлекали в качестве советчика оператора, управляющего исполнительными механизмами для поддержания оптимального течения биотехнологического процесса.

Таблица 3 - Величины и расчетные параметры, применяемые для управления биотехнологическими процессами

Измеряемые параметры	Расчеты на базе измерений
Концентрация основных субстратов и продуктов в культуральной среде (сахара, спирты, органические кислоты и пр.)	Продуктивность (кг /м ³ ч) Удельная скорость роста, μ (ч ⁻¹) Удельная скорость потребления субстрата, qs (кг/кг Хч)

Концентрации важнейших внутриклеточных компонентов (ферменты метаболизма углерода, ключевые метаболиты, АТФ, НАДФ)	Удельная скорость образования продукта, q_p (кг/кг X ч)
Концентрация биомасс	Экономический коэффициент, Y_p, Y_x (кг/кг)
Состав микрофлоры в культуре	Объемный коэффициент массопередачи по кислороду, K_{Lp} (ч ⁻¹)
Концентрация растворенных O ₂ и CO ₂ в культуральной среде	Энергетический выход биосинтеза, η
Уровень и состояние пены	Теплопродукция
Концентрация целевого продукта	Суммарный удельный расход сырья

Для сбора и обработки информации по показаниям датчиков и для представления этой информации в легковоспринимаемой форме разрабатывали также системы автоматического регулирования отдельных параметров (дозировка среды или отдельных компонентов, стабилизация температуры и pH среды, скорости потока) по принципу контроля с обратной связью. Позднее ЭВМ стали использовать для управления технологическим процессом в целом в составе автоматизированных систем (АСУ). Задача создания АСУ стала особенно актуальной при реализации крупнотоннажных биотехнологических процессов. В настоящее время АСУ осуществляется на основе системного подхода, и управление имеет многоуровневую иерархическую систему.

Внедрение АСУ позволяет осуществить рациональное управление процессом биосинтеза. В результате этого экономятся исходное сырье, электроэнергия, вода, повышается продуктивность процесса и производительность труда обслуживающего персонала. Затраты на создание и внедрение АСУ в биотехнологии окупаются сравнительно быстро, в течение 3–4 лет.

Обычная схема контроля и управления ферментацией включает ферментер, датчики, регулируемую систему, которая реализует расчетные зависимости на основе измерения параметров процесса. Исходные данные от датчиков поступают на ЭВМ, в которой они оперативно анализируются, и в результате выдаются данные для исполнительных устройств и механизмов. В настоящее время разработка и внедрение АСУ для биотехнологических процессов определяется уровнем технической оснащенности данных процессов и зависит от уровня электронного оборудования, средств контроля и автоматизации. Возникают также проблемы вследствие большой информационной емкости биотехнологических процессов. Эффективность АСУ зависит от быстродействия и объема памяти ЭВМ. Поэтому прогресс в области биотехнологии зависит от прогресса в области электроники. Большое будущее имеет, в частности, микропроцессорная техника. Внедрение АСУ сдерживается отставанием в создании надежной и быстродействующей контрольно-измерительной аппаратуры, выдерживающей стерилизацию и удовлетворяющей современным требованиям к чувствительности и точности измерения, быстродействию, надежности, миниатюризации.

Вопросы для самоконтроля

- 1) Основные типы биотехнологических процессов.
- 2) Проблема технологии приготовления питательных сред для биосинтеза.
- 3) Проблемы контроля и управления биотехнологическими процессами.
- 4) Величины и расчетные параметры, применяемые для управления биотехнологическими процессами

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. **Блинов, В.А.** Биотехнология (некоторые проблемы сельскохозяйственной биотехнологии)/В.А. Блинов. – Саратов: ОГУП РИК «Полиграфия Поволжья», 2003. – 196 с.
2. **Глик, Б.** Молекулярная биотехнология. Принципы и применение / Б.Глик, Дж.Пастернак. – М, 2002. — 720 с.
3. **Егорова, Т. А.** Основы биотехнологии / Т.А.Егорова, С.М.Клунова, Е.А.Живухина. — М.: Издательский центр «Академия», 2003. — 208 с.
4. www.biotechnolog.ru/ Кузьмина Н.А.
5. <http://ru.wikipedia.org/wiki/>
6. <http://smi-svoi.ru>

Дополнительная

1. Биотехнология: свершения и надежды/Под ред В. Г. Дебабова. — М.: Мир, 1987.— 411 с.
2. Биотехнология. Принципы и применение /Под.ред. И. Хиггинса, Д. Беста и Дж. Джонса. — М: Мир, 1988. — 480 с.
3. **Блинов, В.А.** Общая биотехнология. Курс лекций, Ч. 1.\В.А.Блинов. – Саратов:СГАУ, 2003. – 161 с.
4. **Блинов, В.А.** Общая биотехнология. Курс лекций, Ч. 2. \В.А.Блинов. – Саратов:СГАУ, 2004. – 144 с.
5. *Журналы: «Биотехнология»*

Лекция 5

БИОТЕХНОЛОГИЯ И ПИЩЕВЫЕ ПРОДУКТЫ

5.1. Биотехнологии в пищевой промышленности

Статистические данные ООН по вопросам продовольствия и сельского хозяйства свидетельствуют о том, что проблема обеспечения населения нашей планеты продуктами питания внушает серьезные опасения. По этим данным, более половины населения Земли не обеспечено достаточным количеством продуктов питания, примерно 500 млн. людей голодают, а около 2 млрд. питаются недостаточно или неправильно. К концу XX в. население нашей планеты с учетом контроля рождаемости составило 7,5 млрд. человек. Следовательно, тяжелое уже сейчас положение с продуктами питания может принять в недалеком будущем для некоторых народов угрожающие масштабы.

Пища должна быть разнообразной и содержать белки, жиры, углеводы и витамины. Источники энергии — жиры и углеводы в определенных пределах взаимозаменяемы, причем их можно заменить и белками, но белки нельзя заменить ничем. Проблема питания людей в конечном счете заключается в дефиците белка. Там, где сегодня люди голодают, не хватает прежде всего белка. Установлено, что ежегодный дефицит белка в мире, по самым скромным подсчетам, оценивается в 15 млн. т. Наибольшую популярность как источники белка приобрели семена масличных культур — сои, семян подсолнечника, арахиса и других, которые содержат до 30 процентов высококачественного белка. По содержанию некоторых незаменимых аминокислот он приближается к белку рыбы и куриных яиц и перекрывает белок пшеницы. Белок из сои широко уже используется в США, Англии и других странах как ценный пищевой материал.

5.2. Микробиологический синтез белка

Эффективным источником белка могут служить водоросли. Увеличить количество пищевого белка можно и за счет микробиологического синтеза, который в последние годы привлекает к себе особое внимание. Микроорганизмы чрезвычайно богаты белком — он составляет 70—80 процентов их веса. Скорость его синтеза огромна. Микроорганизмы примерно в 10—100 тысяч раз быстрее синтезируют белок, чем животные. Здесь уместно привести классический пример: 400-килограммовая корова производит в день 400 граммов белка, а 400 килограммов бактерий — 40 тысяч тонн. Естественно, на получение 1 кг белка микробиологическим синтезом при соответствующей промышленной технологии потребуются средств меньше, чем на получение 1 кг белка животного. Да к тому же технологический процесс куда менее трудоемок, чем сельскохозяйственное производство, не говоря уже об исключении сезонных влияний погоды — заморозков, дождей, суховея, засух, освещенности, солнечной радиации и т. д.

Применяя обычные технологические линии по производству синтетических волокон, можно получать из искусственных белков длинные нити, которые после пропитки их формообразующими веществами, придания им соответствующего вкуса, цвета и запаха могут имитировать любой белковый продукт. Таким способом уже получены искусственное мясо (говядина, свинина, различные виды птиц), молоко, сыры и другие продукты. Они уже прошли широкую биологическую апробацию на животных и людях и вышли из лабораторий на прилавки магазинов США, Англии, Индии, стран Азии и Африки. Только в одной Англии их производство достигает примерно 1500 тонн в год. Интересно, что белковую часть школьных обедов в США уже разрешено на 30 процентов заменять искусственным мясом, созданным на основе соевого белка.

Используемое в питании больных Ричмондского госпиталя (США) искусственное мясо получило высокую оценку главного диетолога. Правда, когда больным давали антрекот из искусственного мяса, они жаловались на его тестоватость, хотя и не знали и даже не догадывались о том, что получали не естественный продукт. А когда мясо подавалось в виде мелко нарезанных кусочков, нареканий не было. Обслуживающий персонал также употреблял искусственное мясо, не догадываясь о подделке. Они воспринимали его как натуральную говядину. Врачи госпиталя отмечали также положительное влияние рациона на здоровье пациентов и особенно больных атеросклерозом. В состав такого мяса обязательно включают специально обработанный искусственный белок, небольшое количество яичного альбумина, жиры, витамины, минеральные соли, природные красители, ароматизаторы и прочее, что дает возможность «лепить» изделие с заданными свойствами, учитывая при этом физиологические особенности организма, для которого продукт предназначен. Это особенно важно в диете детей и людей пожилого возраста, больных и выздоравливающих, когда необходимо лимитировать питание по целому ряду пищевых компонентов, что весьма трудно сделать, используя традиционные продукты. Такое мясо можно резать, замораживать, консервировать, сушить или прямо использовать для приготовления различных блюд.

Из 20 аминокислот, входящих в состав белков, 8 аминокислот люди не могут синтезировать, и их относят к незаменимым. Это изолейцин, лейцин, лизин, метионин, треонин, триптофан, валин, фенилаланин. Аминокислоты — это не только питательные вещества, но также ароматические и вкусовые агенты, и потому они широко используются в пищевой промышленности.

Как питательную добавку в пищу чаще всего вносят лизин и метионин. Глутамат натрия и глицин употребляют как ароматические вещества для усиления и улучшения вкуса пищи. У глицина освежающий, сладкий вкус. Его вводят в сладкие напитки, и кроме того, он проявляет там бактериостатическое действие. Цистеин предотвращает подгорание пищи, улучшает пекарские процессы и качество хлеба. Благодаря некоторым бактериям удается получать около 100 г/л глутаминовой аминокислоты. Ежегодно в мире производят микробиологическим способом 270 000 т этой аминокислоты, основная часть которой идет в пищевую промышленность. По объему продукции второе место после глутаминовой кислоты занимает лизин — 180 000 т в год. Другие аминокислоты производят в гораздо меньших количествах.

Аминокислоты в большом количестве применяют как добавку к растительным кормам, которые дефицитны по метионину, треонину, триптофану и особенно по лизину. Если в животных белках содержится 7—9 % лизина, то в белках пшеницы — только около 3 %. Внесение в корма лизина до содержания 0,3 % позволяет сократить их расход больше чем на 20 %. За последние 8 лет количество аминокислот, добавляемых в корма, выросло в 14 раз. Во многих странах метионин добавляют к соевой муке — белковой добавке кормов. Главная область практического применения аминокислот — обогащение кормов. Около 66 % общего количества аминокислот, получаемых в промышленности, используют в кормах, 31 % — в пище и 4 % — в медицине, косметике и как химические реактивы. На основе аминокислот готовят искусственный подсластитель — метиловый эфир L-аспартил-L-фенилаланина, который в 150 раз слаще, чем глюкоза.

Вопросы для самоконтроля

- 1) Микробиологический синтез белка. Перспективы.
- 2) Биотехнология в пищевой промышленности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. **Блинов, В.А.** Биотехнология (некоторые проблемы сельскохозяйственной биотехнологии) / В.А. Блинов. – Саратов – Полиграфия Поволжья, 2003. – 196 с.
2. **Кузьмина, Н.А.** Основы биотехнологии. Учебное пособие для студентов биологического факультета / Н.А. Кузьмина. – Омск: Электронное издание, 2010.
3. **Орехов, С.Н., Сазыкин, Ю.О., Чакалева, И.И.** Биотехнология: учебное пособие. / С.Н. Орехов, Ю.О. Сазыкин, И.И. Чакалева. – М: Электронное издание, 2006.
4. **Шевелуха, В.С., Калашникова, Е.А., Воронин, Е.С.** Сельскохозяйственная биотехнология / В.С. Шевелуха, Е.А. Калашникова, Е.С. Воронин. – М: Высш. Школа, 2003. – 469с.

Дополнительная

1. **Беккер, М.Е., Лиепиныш, Г.К., Райпулис, Е.П.** Биотехнология / М.Е. Беккер, Г.К. Лиепиныш, Е.П. Райпулис Биотехнология. М.: Мир, 1990. – 334с.
2. **Блинов, В.А.** Общая биотехнология в таблицах, рисунках и схемах / В.А. Блинов. – Саратов: Гарнитура Таймс, 2008. – 102 с.
3. **Живухина, Е.А., Егорова, Т.А., Клунова, С.М.** Основы биотехнологии: учебное пособие для высших учебных заведений / Е.А. Живухина, Т.А. Егорова, С.М. Клунова. – М: Издательский центр «Академия», 2003. – 506 с.

Лекция 6

БИОЛОГИЧЕСКИЕ АГЕНТЫ В БИОТЕХНОЛОГИИ

Главным звеном биотехнологического процесса, определяющим всю его сущность, является биологический объект, способный осуществлять определенную модификацию исходного сырья и образовывать тот или иной необходимый продукт. В качестве таких объектов биотехнологии могут выступать клетки микроорганизмов, животных и растений, трансгенные животные и растения, а также многокомпонентные ферментные системы клеток и отдельные ферменты. Основой большинства современных биотехнологических производств до сих пор все еще является микробный синтез, т. е. синтез разнообразных биологически активных веществ с помощью микроорганизмов. К сожалению, объекты растительного и животного происхождения в силу ряда причин еще не нашли столь широкого применения. Независимо от природы объекта, первичным этапом разработки любого биотехнологического процесса является получение чистых культур организмов (если это микробы), клеток или тканей (если это более сложные организмы – растения или животные). Многие этапы дальнейших манипуляций с последними (т.е. с клетками растений или животных), по сути дела, являются принципами и методами, используемыми в микробиологических производствах. И культуры микробных клеток, и культуры тканей растений и животных с методической точки зрения практически не отличаются от культур микроорганизмов. Поэтому дальнейшие рассуждения целесообразно вести применительно к микробиологическим объектам.

6.1. Микробиологические объекты

Мир микроорганизмов крайне разнообразен. В настоящее время относительно хорошо охарактеризовано (или известно) более 100 тысяч различных их видов. Это в первую очередь прокариоты (бактерии, актиномицеты, риккетсии, цианобактерии) и часть эукариот (дрожжи, нитчатые грибы, некоторые простейшие и водоросли). При столь большом разнообразии микроорганизмов весьма важной, а зачастую и сложной, проблемой является правильный выбор именно того организма, который способен обеспечить получение требуемого продукта, т. е. служить промышленным целям. Разделение микроорганизмов на промышленные и непромышленные для лиц, далеких от микробиологии, молекулярной биологии и молекулярной генетики, кажется достаточно определенным: те микроорганизмы, которые используются в промышленном производстве – промышленные, а те, которые не используются, – непромышленные. Однако для тех, кто близко соприкасается с вышеперечисленными отраслями биологических знаний, граница проходит между немногочисленной, но глубоко изученной группой микроорганизмов, служащих модельными объектами при исследованиях фундаментальных жизненных процессов, и всеми остальными микроорганизмами, которые, как правило, генетиками, молекулярными биологами и генными инженерами не изучались совсем или изучались в очень ограниченной степени. К числу первых относятся кишечная палочка (*E. coli*), сенная палочка (*Bac. subtilis*) и пекарские дрожжи (*S. cerevisiae*). Во многих биотехнологических процессах используется ограниченное число микроорганизмов, которые классифицируются как GRAS («generally recognized as safe» обычно считаются безопасными). К таким микроорганизмам относят бактерии *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, другие виды бацилл и лактобацилл, виды *Streptomyces*. Сюда также относят виды грибов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus* и дрожжей *Saccharomyces* и др. GRAS-микроорганизмы непатогенные, нетоксичные и в основном не образуют антибиотики, поэтому при разработке нового биотехнологического процесса следует ориентироваться на данные микроорганизмы, как базовые объекты биотехнологии. Микробиологическая промышленность сегодня

использует тысячи штаммов из сотен видов микроорганизмов, которые первично были выделены из природных источников на основании их полезных свойств, а затем (в большинстве своем) улучшены с помощью различных методов. В связи с расширением производства и ассортимента выпускаемой продукции в микробиологическую промышленность вовлекаются все новые и новые представители мира микробов. Следует отдавать себе отчет, что в обозримом будущем ни один из них не будет изучен в той же степени, как *E.coli* и *Vac.subtilis*. И причина этого очень простая – колоссальная трудоемкость и высокая стоимость подобного рода исследований. Следовательно, возникает проблема разработки стратегии и тактики исследований, которые обусловили бы с разумной затратой труда извлечь из потенциала новых микроорганизмов все наиболее ценное при создании промышленно важных штаммов-продуцентов, пригодных к использованию в биотехнологических процессах.

6.2. Штаммы-продуценты: свойства, особенности, получение и применение

Классический подход получения штамма-продуцента заключается в выделении нужного микроорганизма из природных условий. Из естественных мест обитания предполагаемого продуцента отбирают образцы материала (берут пробы материала) и производят посев в селективную среду, обеспечивающую преимущественное развитие интересующего микроорганизма, т. е. получают так называемые накопительные культуры. Следующим этапом является выделение чистой культуры с дальнейшим дифференциально-диагностическим изучением изолированного микроорганизма и, в случае необходимости, ориентировочным определением его продукционной способности. Существует и другой путь подбора микроорганизмов-продуцентов – это выбор нужного вида из имеющихся коллекций хорошо изученных и досконально охарактеризованных микроорганизмов. При этом, естественно, устраняется необходимость выполнения ряда трудоемких операций. Главным критерием при выборе биотехнологического объекта (в нашем случае микроорганизма-продуцента) является способность синтезировать целевой продукт. Однако помимо этого, в технологии самого процесса могут закладываться дополнительные требования, которые порой бывают очень важными, чтобы не сказать решающими. В общих словах микроорганизмы должны:

- обладать высокой скоростью роста;
- утилизировать необходимые для их жизнедеятельности дешевые субстраты;
- быть резистентными к посторонней микрофлоре, т. е. обладать высокой конкурентоспособностью.

Все вышеперечисленное обеспечивает значительное снижение затрат на производство целевого продукта. Конечно, в каждом конкретном случае ведущим является какой-то один из этих критериев, поскольку в природе устроено так, что во всем получить выигрыш не удастся никогда. И это правило необходимо постоянно иметь в виду. Ниже приводятся примеры, имеющие своей целью проиллюстрировать ранее сказанное.

1. Одноклеточные организмы, как правило, характеризуются более высокими скоростями роста и синтетических процессов, чем высшие организмы. Тем не менее это присуще не всем микроорганизмам. Существуют такие из них (например, олиготрофные), которые растут крайне медленно, однако они представляют известный интерес, поскольку способны продуцировать различные очень ценные вещества.

2. Особое внимание как объекты биотехнологических разработок представляют фотосинтезирующие микроорганизмы, использующие в своей жизнедеятельности энергию солнечного света. Часть из них (цианобактерии и фотосинтезирующие эукариоты) в качестве источника углерода утилизируют CO_2 , а некоторые представители цианобактерий, ко всему сказанному, обладают способностью усваивать атмосферный азот (т. е. являются крайне неприхотливыми к питательным веществам).

Фотосинтезирующие микроорганизмы перспективны как продуценты аммиака, водорода, белка и ряда органических соединений.

3. Определенное внимание уделяется таким объектам биотехнологии, как термофильные микроорганизмы, растущие при 60–80° С. Это их свойство является практически непреодолимым препятствием для развития посторонней микрофлоры при относительно не стерильном культивировании, т. е. является надежной защитой от загрязнений. Среди термофилов обнаружены продуценты спиртов, аминокислот, ферментов, молекулярного водорода. Кроме того, скорость их роста и метаболическая активность в 1,5–2 раза выше, чем у мезофилов. Ферменты, синтезируемые термофилами, характеризуются повышенной устойчивостью к нагреванию, некоторым окислителям, детергентам, органическим растворителям и другим неблагоприятным факторам. В то же время они мало активны при обычных температурах. Так, протеазы одного из представителей термофильных микроорганизмов при 200 С в 100 раз менее активны, чем при 750 С. Последнее является очень важным свойством для некоторых промышленных производств. Например, широкое применение в генетической инженерии нашел фермент Таq-полимераза из термофильной бактерии *Thermus aquaticus*. При их культивировании температура среды, в которой они пребывают, значительно превышает температуру окружающей среды. Данный высокий перепад температур обеспечивает быстрый и эффективный обмен тепла, что позволяет использовать биологические реакторы без громоздких охлаждающих устройств. А последнее, в свою очередь, облегчает перемешивание, аэрацию, пеногашение, что в совокупности значительно удешевляет процесс.

Селекция. Неотъемлемым компонентом в процессе создания наиболее ценных и активных продуцентов, т. е. при подборе объектов в биотехнологии, является их селекция. А генеральным путем селекции является сознательное конструирование геномов на каждом этапе отбора нужного продуцента. Такая ситуация не всегда могла быть реализована, вследствие отсутствия эффективных методов изменения геномов селектируемых организмов. В развитии микробных технологий в свое время сыграли очень важную роль методы, базирующиеся на селекции спонтанно возникающих измененных вариантов, характеризующихся нужными полезными признаками. При таких методах обычно используется ступенчатая селекция: на каждом этапе отбора из популяции микроорганизмов отбираются наиболее активные варианты (спонтанные мутанты), из которых на следующем этапе отбирают новые, более эффективные штаммы. И так далее. Несмотря на явную ограниченность данного метода (приема), заключающуюся в низкой частоте возникновения мутантов, возможности его рано считать полностью исчерпанными. Процесс селекции наиболее эффективных продуцентов значительно ускоряется при использовании *метода индуцированного мутагенеза*. В качестве мутагенных воздействий применяются УФ, рентгеновское и гамма-излучения, определенные химические вещества и др. Однако и этот прием также не лишен недостатков, главным из которых является его трудоемкость и отсутствие сведений о характере изменений, поскольку экспериментатор ведет отбор по конечному результату. Например, устойчивость организма к ионам тяжелых металлов может быть связана с подавлением системы поглощения данных катионов бактериальной клеткой, активацией процесса удаления катионов из клетки или перестройкой системы (систем), которая подвергается ингибирующему действию катиона в клетке. Естественно, знание механизмов повышения устойчивости позволит вести направленное воздействие с целью получения конечного результата за более короткое время, а также селектировать варианты, лучше подходящие к конкретным условиям производства. Таким образом, тенденцией сегодняшнего дня является сознательное конструирование штаммов микроорганизмов с заданными свойствами на основе фундаментальных знаний о генетической организации и молекулярно-биологических механизмах осуществления основных функций организма.

Селекция микроорганизмов для микробиологической промышленности и создание новых штаммов часто направлены на усиление их продукционной способности, т.е. образование того или иного продукта. Решение этих задач в той или иной степени связано с изменением регуляторных процессов в клетке. Как известно, изменения скорости биохимических реакций у бактерий может осуществляться по крайней мере двумя путями. Один из них очень быстрый (реализующийся в течение секунд или минут) заключается в изменении каталитической активности индивидуальных молекул фермента. Второй, более медленный (реализуется в течение многих минут), состоит в изменении скоростей синтеза ферментов. В обоих механизмах используется единый принцип управления системами – принцип обратной связи, хотя существуют и более простые механизмы регуляции активности метаболизма клетки. Самый простой способ регуляции любого метаболического пути основывается на доступности субстрата или наличии фермента. С другой стороны, повышение концентрации субстрата приводит к стимулированию метаболического пути. Поэтому, независимо от каких-то иных факторов, наличие (доступность) субстрата следует рассматривать как потенциальный механизм любого метаболического пути. Иногда эффективным средством повышения выхода целевого продукта является увеличение концентрации в клетке какого-либо определенного предшественника. Аналогичный эффект может быть получен и в результате повышения концентрации ферментов, что достигается, например, амплификацией генов, контролирующих синтез соответствующего фермента. Наиболее распространенным способом регуляции активности метаболических реакций в клетке является регуляция по типу ретроингибирования.

Таблица 2 – Микроорганизмы (биологические агенты), применяемые в биотехнологии, и их продукты

Название	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 B12
<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
Гибридомы	Гибридные клетки (раковые лимфоциты)	Иммуноглобулины и моноклональные антитела
Клеточные линии млекопитающих	Клеточные культуры	Интерферон
<i>E. coli</i> (рекомбинантные штаммы)	Бактерии	Инсулин, гормон роста, интерферон
<i>Blakeslea trispora</i>	Плесень	β -Каротин
<i>Phaffia rhodozyma</i>	Дрожжи	Астаксантин
<i>Bacillus thuringiensis</i>	Бактерии	Биоинсектициды
<i>Bacillus popilliae</i>	Бактерии	Биоинсектициды

Вопросы для самоконтроля

- 1) Биологические объекты, применяемые в биотехнологии.
- 2) Микробиологические объекты.
- 3) Требования к штаммам-продуцентам.
- 4) Методы получения штаммов-продуцентов.
- 5) Микроорганизмы, применяемые в биотехнологии и их продукты.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. **Блинов, В.А.** Общая биотехнология / В.А. Блинов. – Саратов: ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ», 2003. – 162 с.
2. **Блинов, В.А.** Биотехнология (некоторые проблемы сельскохозяйственной биотехнологии) / В. А. Блинов. – Саратов – Полиграфия Поволжья, 2003. – 196 с.
3. **Орехов, С.Н., Сазыкин, Ю.О., Чакалева, И.И.** Биотехнология: учебное пособие / С.Н. Орехов, Ю.О. Сазыкин, И.И. Чакалева. – М: Электронное издание, 2006.

Дополнительная

1. **Блинов, В.А.** Общая биотехнология в таблицах, рисунках и схемах / В.А. Блинов. – Саратов: Гарнитура Таймс, 2008. – 102 с.
2. **Живухина, Е.А., Егорова, Т.А., Клунова, С.М.** Основы биотехнологии: учебное пособие для высших учебных заведений / Е.А. Живухина, Т.А. Егорова, С.М. Клунова. – М: Издательский центр «Академия», 2003. – 506 с.
3. **Кузьмина, Н.А.** Основы биотехнологии. Учебное пособие для студентов биологического факультета / Н.А. Кузьмина. – Омск: Электронное издание, 2010.

Лекция 7

БИОКАТАЛИЗ И БИОТРАНСФОРМАЦИЯ

7.1. Биокатализ и биотрансформация. Общие понятия

Биокатализ и биотрансформация являются процессами химического превращения одного или более веществ, протекающими под действием катализаторов ферментов, применяемых в очищенном виде или в составе клеток микроорганизмов либо изолированных животных или растительных клеток.

При этом биотрансформация – это относительно неглубокое химическое превращение уже в основном сформированного химического соединения под влиянием ферментов. При биокатализе же возможен синтез нового вещества из различных по структуре реагентов или разложение сложного вещества под действием ферментов.

Рассмотрим основные группы технически важных биотрансформации:

- гидроксирование различных позиций молекулы вещества (добавление гидроксильной группы OH);
- введение двойной связи в том или ином месте;
- обрыв боковых цепей у разветвленных молекул;
- окисление молекул спиртов до кетонов;
- дегидрирование;
- изомеризация;
- ароматизация (появление ароматических углеводородных радикалов).

Назовем также основные виды реакций биокатализа (практически они будут совпадать с наименованиями основных групп ферментов):

- окисление и восстановление;
- перенос химических функциональных групп от одних молекул на другие;
- гидролиз;
- реакции с участием двойных связей (образование или, наоборот, присоединение к ним химических групп);
- изомеризация, или структурные изменения в пределах одной молекулы;
- синтез сложных соединений (как правило, требующий энергетических затрат).

Как видно из приведенных перечислений, биотрансформация и биокатализ являются процессами, сходными по своей природе

В обоих случаях реакции превращения субстрата в продукт протекают через промежуточную стадию взаимодействия фермента с субстратом (субстратами) и образования фермент-субстратных комплексов.

Молекула фермента – очень длинный закрученный белок, к тому же свернутый в виде пространственного упругого клубка причудливой формы.

Спутанность и беспорядок белка не случайны – они строго обусловлены чередованием аминокислот в молекуле фермента. В этой структуре есть участки, куда легко притягивается определенная форма молекулы субстрата. Доказано, что скорость реакции на ферменте в 10 млрд. раз больше, чем без него. Поэтому ферменты просто осуществляют многие процессы, которые кажутся нереальными без них, например взаимодействие атмосферного азота с водой с образованием аммонийных соединений.

7.2. Преимущества и недостатки биокаталитических процессов

Преимущества:

1. Каталитическая активность ферментов высокоспецифична и ограничивается одним типом реакций, так что не происходит побочных реакций.

2. Ферменты могут сразу атаковать исходную молекулу и осуществлять превращение, для которого потребовалось бы несколько вспомогательных многоступенчатых химических синтезов.

3. Химические преобразования вещества упрощаются — одна или две ступени вместо многоступенчатого синтеза.

4. Ферментативные реакции могут протекать с большой скоростью в мягких условиях.

Недостатки:

1. Для получения чистого продукта нужен чистый фермент, а его выделение очень дорого.

2. В выходящем из реактора продукте сохраняется фермент, который продолжает действовать.

3. Дорогостоящий фермент используется только однократно.

4. Свободный фермент быстро инактивируется (т. е. разрушается).

5. В отличие от биомассы, которая самовоспроизводится в процессе непрерывной ферментации, фермент в непрерывном процессе нужно все время вводить, так как он вымывается с продуктом реакции.

7.3. Общая оценка процессов биотрансформации

Рассмотрим преимущества и недостатки процессов биотрансформации с иммобилизованным биокатализатором в сравнении с процессами ферментации.

Преимущества:

1. Более высокая концентрация реагентов в потоке.

2. Более чистый и менее сложный по составу поток.

3. Проще выделяется продукт.

4. Меньшие капитальные затраты.

5. В непрерывном процессе биотрансформации более эффективно используются оборудование и рабочая сила.

6. Процесс биотрансформации легче автоматизировать.

7. Меньше и проще требования к отходам.

Недостатки:

1. Стоимость сырья выше, чем для обычной ферментации.

2. Существуют проблемы со стабильностью биокатализатора.

3. Для получения биокатализатора все-таки требуется ферментация. Ее стоимость, как и стоимость установленного оборудования, накладывается на процесс биотрансформации.

Примеры использования ферментов:

Заканчивая раздел, связанный с процессами биокатализа и биотрансформации, перечислим наиболее известные примеры использования ферментов.

1. Получение глюкозо-фруктозных сиропов из крахмала. Здесь используется 3 фермента: амилаза — для разжижения крахмала, глюкоамилаза — для осахаривания крахмала (трансформации в глюкозу) и глюкозоизомеразы — для изомеризации глюкозы в более сладкий сахар фруктозу.

2. Обработка молочной сыворотки. Фермент бета-галактозидаза способствует расщеплению молочного сахара лактозы на глюкозу и галактозу.

Тот же фермент используется для обработки молока и получения безлактозного молока.

3. Производство этанола, пива. Здесь используются — амилаза и глюкоамилаза.

4. Обработка молока при получении творога и сыров. Здесь используется молокосвертывающий фермент микробный реннин.

5. Стиральные порошки с биодобавками. Используются ферменты протеазы.

б. Производство вина и соков. Здесь используется фермент пектиназа, который позволяет превращать взвешенные частицы виноградной или фруктовой мякоти в растворимые сахара.

7. Получение α -аминокислот, преимущественно усваиваемых животными, из β -аминокислот, которые получают при химическом синтезе.

8. Очистка кожи от волос в кожевенной промышленности. Эта операция осуществляется с использованием ферментов протеаз, коллагеназы.

9. Осуществление превращений стероидов (например, превращение гидрокортизона в преднизолон). Используется иммобилизованный фермент дегидрогеназа.

10. Модификация природных антибиотиков. Мы уже упоминали практически важный процесс получения 6-аминопеницилла - из пенициллина. Используется фермент пенициллинамидаза или иммобилизованные клетки бактерий, продуцирующих этот фермент.

Вопросы для самоконтроля

- 1) Дайте определения биокатализ и биотрансформация.
- 2) Назовите преимущества и недостатки биокаталитических процессов.
- 3) Назовите преимущества и недостатки процессов биотрансформации.
- 4) Приведите примеры использования ферментов в промышленности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. **Глик, Б.** Молекулярная биотехнология. Принципы и применение / Б.Глик, Дж.Пастернак. – М, 2002. — 720 с.
2. **Евтушенко, А.Н.** Введение в биотехнологию (курс лекций) / А.Н. Евтушенко, Ю.К. Фомичев. – Мн.: БГУ, 2002. – 105 с.
3. **Егорова, Т. А.** Основы биотехнологии / Т.А.Егорова, С.М.Клунова, Е.А.Живухина. — М.: Издательский центр «Академия», 2003. — 208 с.
4. www.biotechnolog.ru/ Кузьмина Н.А.

Дополнительная

1. Биотехнология: свершения и надежды/Под ред В. Г. Дебабова. — М.: Мир, 1987.— 411 с.
2. Биотехнология. Принципы и применение /Под.ред. И. Хиггинса, Д. Беста и Дж. Джонса. — М: Мир, 1988. — 480 с.
3. **Блинов, В.А.** Общая биотехнология. Курс лекций, Ч. 1.\В.А.Блинов. – Саратов:СГАУ, 2003. – 161 с.
4. **Блинов, В.А.** Общая биотехнология. Курс лекций, Ч. 2. \В.А.Блинов. – Саратов:СГАУ, 2004. – 144 с.
5. *Журналы: «Биотехнология»*

ХЛЕБОБУЛОЧНЫЕ ИЗДЕЛИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО НАЗНАЧЕНИЯ

8.1. Хлеб в питании человека

Хлеб – один из старейших приготавливаемых продуктов. Первый хлеб представлял собой подобие запеченной кашицы, приготовленной из крупы и воды, а также мог стать результатом случайного приготовления или намеренных экспериментов с водой и мукой.

Считается, что хлеб из дрожжевого теста впервые появился в Египте в связи с местными благоприятными условиями для роста пшеницы, а для приготовления такого хлеба потребовалось вывести сорт пшеницы, обладающий двумя новыми свойствами. Первое улучшение состояло в том, чтобы найти и выращивать пшеницу, которую можно было бы молотить без предварительной сушки на огне. Находка сорта пшеницы, содержащего достаточно много клейковины, стало вторым открытием, которое помогло появлению дрожжевого хлеба. Считается, что первоначально дрожжевое тесто стало использоваться в XVII веке до н. э., но пшеница, из которой можно было делать такое тесто, встречалась очень редко.

Для первых видов хлеба было много способов заквашивания теста. Можно было использовать в качестве дрожжей бактерии, имеющиеся в воздухе. Для этого тесто оставляли на открытом воздухе на некоторое время перед выпечкой. Древние народы использовали снятую с пива пену. В тех частях древнего мира, где вместо пива пили вино, в качестве закваски использовали смесь из виноградного сока и муки, которой позволяли забродить, или пшеничные отруби, пропитанные вином. Однако наиболее распространенным методом было оставить кусок теста при приготовлении хлеба и использовать его на следующий день в качестве источника брожения.

Даже в древнем мире существовало очень много разнообразных видов хлеба. Среди сортов хлеба упоминаются лепёшки, медовый хлеб, буханки посыпанные маковыми зёрнами.

Тип и качество муки, использовавшейся для приготовления хлеба, также могло различаться. Хлеб, сделанный из пшеницы, по сравнению с тем, что сделан из ячменя, более питательный, легче усваивается, и всегда лучшего качества. В порядке достоинства, хлеб, сделанный из хорошо просеянной муки, является первым, после него – хлеб из обычной пшеницы, а затем хлеб, сделанный из непросеянной муки.

На протяжении поколений белый хлеб считался предпочтительным для богатых, тогда как беднота употребляла серый и чёрный (ржаной) хлеб. Однако в XX веке среди некоторых слоев населения предпочтения стали обратными – серый и чёрный хлеб стали есть больше из-за более высокой питательной ценности, тогда как белый хлеб стал ассоциироваться с игнорированием питательности, что якобы считалось присущим низшему классу.

Пищевая ценность хлеба обусловлена многими факторами. Содержание в хлебе пищевых веществ (белков, углеводов, жиров, витаминов) зависит от вида, сорта муки и используемых добавок. Количество углеводов в наиболее распространенных сортах хлеба составляет 40,1 – 50,1 % (80 % приходится на крахмал), белка – 4,7 – 8,3, жира – 0,6 – 1,3, воды – 47,5 %. При внесении в хлеб различных обогатителей (жира, сахара, молока), содержание вышеуказанных веществ увеличивается в зависимости от вида добавки. В изделиях из пшеничной муки белков больше, чем в изделиях из ржаной муки [13,35].

На одну часть белков в хлебе приходится примерно до восьми частей углеводов, что явно недостаточно с точки зрения количественного содержания белковых веществ. Наиболее рациональным соотношением белков, жиров и углеводов в пище считают 1:1:5.

За счет хлеба организм человека на 50 % удовлетворяет потребность в витаминах группы В: тиамине (В1), рибофлавине (В2) и никотиновой кислоте (РР). Наличие витаминов в хлебе обусловлено в основном сортом муки. При помоле зерна в муку

теряется до 65 % витаминов, и тем больше, чем выше сорт муки. Хлеб из обойной муки характеризуется более высоким содержанием витаминов.

Хлеб важен и как источник минеральных веществ. В хлебе содержится калий, фосфор, сера, магний; в несколько меньших количествах – хлор, кальций, натрий, кремний и в небольших количествах другие элементы. Хлеб из низших сортов муки содержит больше минеральных веществ.

Биологическая ценность хлеба характеризуется аминокислотным составом, содержанием зольных элементов, витаминов и полиненасыщенных жирных кислот.

Белки хлеба являются биологически полноценными. Однако по содержанию таких незаменимых аминокислот, как лизин, метионин и триптофан, белки хлеба уступают белкам молока, яиц, мяса и рыбы. Дефицит этих аминокислот больше в хлебе из пшеничной муки, чем в хлебе из муки ржаной. Белки хлеба из низших сортов муки (обойной) более полноценные, чем из высших.

Усвояемость хлеба зависит от вида, сорта муки и ее качества. Хлеб из пшеничной муки усваивается лучше, чем хлеб из ржаной муки того же сорта. Усвояемость белков, жиров и углеводов выше в хлебе из более высоких сортов муки и соответственно для изделий из пшеничной муки высшего сорта составляет 87, 95 и 98 %, а из обойной муки — 70, 92 и 94 %. Хлеб с хорошей, равномерной, тонкостенной пористостью, эластичный, в котором все вещества находятся в наиболее благоприятном для действия ферментов состоянии (белки денатурированы, крахмал клейстеризован, сахара растворены), легко пропитывается пищеварительными соками, хорошо переваривается и усваивается.

Энергетическая ценность хлеба определяется особенностью его химического состава и зависит от вида, сорта муки и рецептуры. Энергетическая ценность хлеба пшеничного выше соответствующего сорта ржаного. С повышением сорта муки увеличивается количество выделяемой энергии. Сорта хлеба, где рецептурой предусмотрены добавки различных питательных веществ, характеризуются более высокой энергетической ценностью. Так, энергетическая ценность 100 г хлеба из муки пшеничной обойной равна 849 кДж, из муки пшеничной высшего сорта — 975, из муки ржаной сеяной — 895, хлеба улучшенного — до 1 100, сдобных изделий — до 1450 кДж.

Органолептическая ценность хлеба зависит от его внешнего вида, состояния мякиша, вкуса, аромата и во многом определяет его пищевую ценность. Хлеб, правильно выпеченный, из хорошо приготовленного теста, правильной формы, с хорошо окрашенной, подрумяненной корочкой лучше усваивается. Вкус и аромат хлеба обусловлены содержанием органических кислот, спиртов, эфиров, альдегидов и других веществ, которые накапливаются в процессе брожения теста и при выпечке изделий. Количество вкусовых и ароматических веществ в основном зависит от вида и сорта муки, рецептуры, особенностей приготовления теста, внесения в него различных добавок и продолжительности выпечки.

Физиологическое значение хлеба заключается в том, что он придает всей массе потребляемой пищи благоприятную консистенцию, способствует смачиваемости пищеварительными соками и лучшей работе пищеварительного тракта.

8.2.Использование функциональных добавок в хлебопечении

Известно, что практически во всех регионах России рационы питания населения испытывают дефицит в витаминах, микро- и макроэлементах и в других физиологически необходимых веществах. Дефицит микронутриентов, витаминов и минеральных веществ выявляется не только у ограниченной категории детей и взрослых, но и практически всех групп населения во всех регионах страны.

Положение усугубляется тем, что продукты питания, в первую очередь мука и её производные, составляющие основу рациона питания населения, в значительной степени обедняются этими веществами в процессе их производства.

Поэтому одним из приоритетных направлений Концепции государственной политики в области здорового питания населения Российской Федерации является ликвидация дефицита микронутриентов за счет обогащения ими продуктов питания массового потребления.

В настоящее время некоторые продукты питания обогащают отдельными микроэлементами, например, препаратами йода или препаратами, содержащими некоторый набор витаминов, что в целом не решает проблемы придания продуктам питания повышенной пищевой и биологической ценности. Нередко для обогащения продуктов питания используют концентраты природных материалов, содержащих богатый набор физиологически необходимых и биологически важных минеральных и органических веществ.

Особо следует отметить предпочтительность использования для этих целей экстрактов и других концентратов растительного происхождения, так как они, как правило, не оказывают побочных действий при длительном применении, мягко и многосторонне воздействуют на организм. Часто концентраты растительного происхождения, кроме профилактических свойств, оказывают положительное влияние на технологию и качество продуктов питания.

Для улучшения качества хлебобулочных изделий и повышения их пищевой ценности применяют различные обогащающие добавки, одной из которых является рябиновый порошок. Содержание белка в рябиновом порошке не очень высокое (до 6%), однако на долю незаменимых и условно заменимых аминокислот приходится более 42%. Из заменимых аминокислот большая доля приходится на глутаминовую и аспарагиновую кислоты. Содержание пищевых волокон в рябиновом порошке достигает 60%. Важным является значительное содержание в рябиновом порошке пектиновых веществ и биологически активных веществ.

Проводились исследования по разработке рецептуры и технологии производства сорта хлеба с использованием семян льна. Семена льна – это перспективный источник таких биологически активных нутриентов, как полиненасыщенные жирные кислоты и полноценные по аминокислотному составу белки. Типичный состав льняного семени: жиры – до 45%, белки – до 22%, пищевые волокна – до 28%, а также сахара, ароматические кислоты, лигнины – до 6%. Этот продукт отличается низким содержанием насыщенных жирных кислот и высоким содержанием ненасыщенных жирных кислот. Полиненасыщенные жирные кислоты льняного семени – α – линоленовая и линолевая считаются незаменимыми. Льняная мука содержит в 2 раза больше белка, чем пшеничная мука 1 – го сорта.

Также были проведены исследования по разработке рецептуры и технологии производства нового диетического сорта хлеба с использованием крапивы двудомной. Крапива двудомная содержит такие важные вещества, как аминокислоты, витамины, минеральные соединения, дубильные, красящие вещества др. Крапива богата витамином К, повышающим свертываемость крови. Входящие в её состав муравьиная кислота, дубильные вещества и флавоноиды обладают антигистаминным и антиоксидантным действием. В состав белков крапивы входят 9 из 10 незаменимых аминокислот.

Результаты исследований показали, что внесение порошка крапивы у пшеничных и пшенично-ржаных изделий ухудшало их внешний вид, не оказывало отрицательного воздействия на органолептические и физико-химические показатели изделий [20]. Влажность изделий осталась на уровне контроля, пористость, удельный объём и формоустойчивость хлеба изменились незначительно и остались в допустимых пределах. Кислотность изделий с добавлением растительного сырья несколько снизилась, по сравнению с контролем.

Вопросы для самоконтроля

- 1) Хлеб в питании человека.
- 2) Использование функциональных добавок в хлебопечении. Примеры.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. **Глик, Б.** Молекулярная биотехнология. Принципы и применение / Б.Глик, Дж.Пастернак. — М, 2002. — 720 с.
2. **Евтушенко, А.Н.** Введение в биотехнологию (курс лекций) / А.Н. Евтушенко, Ю.К. Фомичев. — Мн.: БГУ, 2002. — 105 с.
3. **Егорова, Т. А.** Основы биотехнологии / Т.А.Егорова, С.М.Клунова, Е.А.Живухина. — М.: Издательский центр «Академия», 2003. — 208 с.
4. www.biotechnolog.ru/ Кузьмина Н.А.

Дополнительная

1. Биотехнология: свершения и надежды/Под ред В. Г. Дебабова. — М.: Мир, 1987.— 411 с.
2. Биотехнология. Принципы и применение /Под.ред. И. Хиггинса, Д. Беста и Дж. Джонса. — М: Мир, 1988. — 480 с.
3. **Блинов, В.А.** Общая биотехнология. Курс лекций, Ч. 1. \В.А.Блинов. — Саратов:СГАУ, 2003. — 161 с.
4. **Блинов, В.А.** Общая биотехнология. Курс лекций, Ч. 2. \В.А.Блинов. — Саратов:СГАУ, 2004. — 144 с.
5. *Журналы: «Биотехнология»*

Лекция 9

ПРЕБИОТИКИ. ПИЩЕВЫЕ ВОЛОКНА КАК КОМПОНЕНТЫ ПРОДУКТОВ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПИТАНИЯ

9.1. Пребиотики

Пребиотики – субстанция, которая содержит углеводы, характеризующиеся двумя признаками: они не перевариваются и вызывают повышенный рост полезных микроорганизмов в кишечнике.

Установлено, что помимо пробиотиков для поддержания нормальной микрофлоры необходимы и пребиотики. Они служат питанием для «дружественных» организму человека микроорганизмов. Механизм пробиотического действия основан на том, что микрофлора человека, как это сказано выше, представлена в кишечнике бифидобактериями, а они вырабатывают ферменты типа гидролаз. Эти ферменты расщепляют пребиотики, и полученная таким образом энергия используется бифидобактериями для роста и размножения. Кроме того, в этом процессе образуются органические кислоты. Именно они понижают кислотность среды и тем самым препятствуют развитию патогенных микроорганизмов, которые не обладают ферментами для переработки пребиотиков. Последние стимулируют и активизируют метаболические реакции полезных представителей микрофлоры человека.

Пребиотики – углеводы с низким содержанием молекул, которые соединены друг с другом бетагликозидными связями. В них отсутствует фермент, способствующий расщеплению. По этой причине пребиотики, попадая в желудок, не перевариваются. Они попадают в кишечник и там расщепляются, выступая пищевыми субстратами. Пребиотики стимулируют рост полезной микрофлоры и укреплению иммунитета.

Пробиотики - это живые культуры бифидобактерий и лактобацилл, которые составляют основу нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта человека [15]. Использование пробиотиков в лечении дисбактериозов является заместительной терапией, то есть лечением, нацеленным на восполнение дефицита нормальной флоры через их пероральное употребление. Данная стратегия лечения обладает рядом существенных недостатков: пробиотики обладают плохой проходимостью через верхние разделы ЖКТ и плохой приживаемостью в толстом кишечнике. К достоинствам пробиотиков относят их безопасность (таблица 3).

Таблица 3 - Сравнительная характеристика про - и пребиотиков

Показатель	Пребиотики	Пробиотики
Состав	Вещества, которые являются пищей для полезных бактерий, находящихся в кишечнике	Живые клетки полезной микрофлоры кишечника: дактобациллы, бифидобактерии и т.д.
Действие	Стимуляция роста естественной микрофлоры кишечника	Заселение кишечника микрофлорой извне
Прочность через органы пищеварения	Одним из основных свойств пребиотиков является то, что они не перевариваются и достигают кишечника в своем первоначальном виде	Около 5–10% принятых пробиотиков достигают кишечника в своем первоначальном виде

Эффективность	Прием пребиотиков стимулирует популяцию полезных для организма бактерий	В кишечнике находится около 500 видов полезных бактерий, пробиотик может содержать 1–2 вида.
---------------	-------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------

Высокий уровень нормальной микрофлоры не служит показателем того, что она в полной мере проявляет свои полезные свойства. Под влиянием неблагоприятных факторов может изменяться не только видовой состав бифидобактерий и лактобацилл, но и их ферментативная активность. Поэтому становится целесообразным одновременное использование про- и пребиотиков. Такие комбинированные биопрепараты получили название синбиотики.

Как известно, Землю населяет огромное количество различных видов бактерий, как «хороших», так и «плохих». Они встречаются повсюду - в воздухе, воде, почве, у растений и животных. И, конечно же, живут в организме человека, причем основная масса бактерий сосредоточена в пищеварительном тракте. К «друзьям» человека относятся бифидобактерии и лактобациллы. Больше всего в организме содержится бифидобактерий - в норме они составляют 85-98 % от общего числа микроорганизмов. Полезные микроорганизмы активизируют иммунную систему, защищают нас от экспансии патогенных и условно-патогенных бактерий, обезвреживают токсины, выводят из организма тяжелые металлы, радионуклиды, синтезируют витамины, нормализуют минеральный обмен.

В современных условиях становится все более очевидным, что удовлетворить потребность организма во всех необходимых витаминах, удовлетворяясь только естественным содержанием их в пищевых продуктах, трудно, а в ряде случаев и невозможно. Возникает необходимость специального обогащения пищевых продуктов витаминами. А это может быть эффективным только в том случае, если витаминизировать продукты массового повседневного потребления. С целью сохранения белка, витаминов, ферментов и других биологически-активных веществ изыскиваются также новые технологические процессы производства кондитерских изделий.

Для создания кондитерских продуктов специального назначения могут быть использованы различные виды сырья, такие как пищевые волокна, отруби пшеничные, хлопья, дрожжевые культуры. Роль пищевых волокон в питании многообразна. Она состоит частично в том, что они способствуют выведению из организма некоторых метаболитов пищи и загрязняющих ее веществ, регуляции физиологических, биохимических процессов в органах пищеварения. Оптимальное суточное потребление ПВ по различным данным колеблется в пределах от 40-70 г.

9.2. Пищевые волокна

Пищевые волокна – пищевые вещества, не перевариваемые ферментами организма человека, но перерабатываемые полезной микрофлорой кишечника.

Пищевые волокна подразделяют на растворимые и нерастворимые:

-растворимые пищевые волокна (пектины, камеди, слизи, некоторые фракции гемицеллюлозы) в воде они сильно набухают, впитывая воду, и превращаются в слизистую студнеобразную массу;

-нерастворимые пищевые волокна (целлюлоза, лигнин, часть гемицеллюлозы) – в воде сильно набухают, но при этом сохраняют свою форму.

Свойства пищевых волокон:

-способствуют выведению холестерина из организма, причем "вредной" фракции холестерина, что важно при нарушении жирового обмена, атеросклерозе, гипертонической болезни, ишемической болезни сердца;

-способствуют выравниванию уровня глюкозы и инсулина в крови, что важно для больных диабетом 2 типа;

-способствуют выведению тяжелых металлов, радионуклидов, токсических веществ;

-пищевые волокна, удерживая воду, способствуют лучшему опорожнению кишечника, естественному очищению организма;

-используются полезными бактериями кишечника для своей жизнедеятельности.

В течение длительного времени пищевые волокна называли "балластными веществами", от которых старались освободить продукты для повышения их пищевой ценности (сахар-рафинад, мука тонкого помола и изделия из нее, осветленные фруктовые и ягодные соки и т.д.). Однако, пищевые волокна очень важны в питании [12]. Они играют важнейшую роль в процессах пищеварения и в жизнедеятельности организма человека в целом.

Чтобы получить суточную норму пищевых волокон, нужно будет съесть три отрубных батона весом по 400 г.

Большинство населения земного шара съедает не более 15 г пищевых волокон в день, из которых 10 г приходится на хлеб и другие продукты из злаков, около 7 г – на картофель, 6 г - на другие овощи и лишь 2 г – на фрукты и ягоды. От дефицита клетчатки страдают 80 % населения земного шара. При содержании количества клетчатки менее 16 граммов в день, риск развития сердечно - сосудистых заболеваний увеличивается на 67 %.

Дефицит пищевых волокон считается одним из главных факторов риска развития различных заболеваний: синдром раздраженного кишечника, сахарный диабет 2 типа [18].

Бедная пищевыми волокнами пища может находиться в кишечнике до 80 часов. Богатая клетчаткой пища проходит весь желудочно-кишечный тракт за 18-36 часов, что более физиологично и полезно для здоровья.

Нерастворимые и растворимые пищевые волокна являются хорошим субстратом для развития бактерий кишечной микрофлоры.

Пищевые волокна на сегодняшний день являются одними из самых востребованных и наиболее широко применяемых пищевых ингредиентов благодаря их многофункциональности. С одной стороны, пищевые волокна используют как технологические добавки, изменяющие структуру и химические свойства пищевых продуктов, с другой стороны являются прекрасными функциональными ингредиентами, которые способны оказывать благоприятное воздействие, как на отдельные системы организма человека, так и на весь организм в целом.

ПВ - не являются добавками, и не входят в перечень ингредиентов, подлежащих обязательному декларированию в составе продукта с индексом «Е». Клетчатка, введенная в рецептуру в количестве до 3%, позволяют улучшить физиологические и питательные аспекты готового продукта за счет:

-улучшения метаболических процессов организма;

-выведения из организма человека канцерогенных веществ, тяжелых металлов;

-обогащения готовых мясных продуктов жизненно необходимыми балластными веществами.

Применение пищевых волокон - клетчаток позволяет улучшить экономические показатели производства за счет снижения себестоимости и повышения качества готовых мясопродуктов.

Также клетчатку используют в мясном, кондитерском и хлебобулочном производстве. В мясной промышленности ее можно использовать для всех видов колбас, ветчин, полуфабрикатов, мясных консервов.

В кондитерской и хлебобулочной промышленности, ее можно использовать при производстве теста блинчиков, затяжного печенья и крекеров, вафельной продукции, зефира и пастилы, кексов и бисквитных полуфабрикатов, помадных конфет, сахарного и сдобного печенья, овсяного печенья, пряников, а также при производстве экструдированной продукции. Используя клетчатку, тесто становится эластичным, пышным, несколько осветленным, хорошо промешанным [28]. Улучшаются его адгезивные способности, поверхность - без пузырьков; существенно улучшается и вкусовые качества готового изделия. Также увеличивается выход, и продлеваются сроки хранения свежести и микробиологической устойчивости.

Клетчатка имеет высокие функциональные свойства:

- влагопоглощающая и жиросвязывающая способность за счет уникальной природной капиллярной структуры волокон;
- инертность к любым рецептурным ингредиентам продукта, термостабильность;
- хорошие эмульгирующие свойства, удержание влаги;
- прочное удержание и равномерное распределение влаги и жира по всему объему в структуре продукта;
- продление сроков годности, а также сохранения свежести и микробиологической устойчивости продуктов за счет снижения показателя активности воды;
- формирование трехмерного, прочного армированного каркаса в структуре продукта при набухании клетчатки в воде;
- стабилизация текстуры, формоудерживающих и прочностных свойств продукта;
- глянец поверхности, четкость рисунка, рельефность гравюры в кондитерских изделиях

В своем составе клетчатка имеет 60-98 % балластных веществ – целлюлозы и гемицеллюлозы. Использование ее в рецептурах продуктов позволяет декларировать их как продукцию лечебно-профилактического назначения.

Клетчатка идеально комбинируется в рецептурах продуктов с другими функциональными добавками и усиливает их действие.

Соответственно, для каждого вида продукта присущи свои технологические преимущества применения растительной клетчатки.

Вопросы для самоконтроля

- 1) Пребиотики. Определение, функциональные свойства.
- 2) Сравнительная характеристика про- и пребиотиков.
- 3) Пищевые волокна. Использование в пищевой промышленности.
- 4) Свойства клетчатки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. **Глик, Б.** Молекулярная биотехнология. Принципы и применение / Б.Глик, Дж.Пастернак. – М, 2002. — 720 с.
2. **Евтушенко, А.Н.** Введение в биотехнологию (курс лекций) / А.Н. Евтушенко, Ю.К. Фомичев. – Мн.: БГУ, 2002. – 105 с.
3. **Егорова, Т. А.** Основы биотехнологии / Т.А.Егорова, С.М.Клунова, Е.А.Живухина. — М.: Издательский центр «Академия», 2003. — 208 с.
4. www.biotechnolog.ru/ Кузьмина Н.А.

Дополнительная

1. Биотехнология: свершения и надежды/Под ред В. Г. Дебабова. — М.: Мир, 1987.— 411 с.
2. Биотехнология. Принципы и применение /Под.ред. И. Хиггинса, Д. Беста и Дж. Джонса. — М: Мир, 1988. — 480 с.

3. **Блинов, В.А.** Общая биотехнология. Курс лекций, Ч. 1. \В.А.Блинов. – Саратов:СГАУ, 2003. – 161 с.
4. **Блинов, В.А.** Общая биотехнология. Курс лекций, Ч. 2. \В.А.Блинов. – Саратов:СГАУ, 2004. – 144 с.
5. *Журналы: «Биотехнология»*

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФЕРМЕНТОВ

10.1. Преимущества иммобилизованных ферментов

Широкие перспективы открылись перед инженерной энзимологией в результате создания нового типа биоорганических катализаторов, так называемых иммобилизованных ферментов. Термин «иммобилизованные ферменты» узаконен сравнительно недавно, в 1974 г. Сандэремом и Реем, хотя еще в 1916 г. Нельсон и Гриффи показали, что инвертаза, адсорбированная на угле или алюмогеле, сохраняет свою каталитическую активность. Однако начало целенаправленных исследований, ориентированных на создание такого рода стабилизированных ферментных катализаторов, относится к середине XX века, при этом широкий фронт работ и ощутимые успехи достигнуты в последние 20-25 лет. Иммобилизация - это процесс прикрепления ферментов к поверхности природных или синтетических материалов, включение их в полимерные материалы, полые волокна и мембранные капсулы, поперечная химическая сшивка. Иммобилизацию также можно характеризовать как физическое разделение катализатора и растворителя, в ходе которого молекулы субстрата и продукта легко обмениваются между фазами. Разделение может быть достигнуто адсорбционным или ковалентным связыванием фермента с нерастворимыми носителями, либо связыванием отдельных молекул фермента с образованием агрегатов. При иммобилизации ферментов происходит стабилизация каталитической активности, так как этот процесс препятствует денатурации белков. Иммобилизованный фермент, имеющий ограниченную возможность для конформационных перестроек, быстрее растворимого находит кратчайший путь к функционально активной конформации. Иммобилизованные ферменты приобретают, помимо стабильности, отдельные свойства, не характерные для их свободного состояния. По образному выражению А. М. Егорова (1987) «Иммобилизованные ферменты как гребцы-невольники на галерах, прикованные каждый к своей скамье, пространственно разобщены на носителе. Это означает резкое затруднение межмолекулярных взаимодействий типа агрегации, которые могут вызвать инактивацию фермента». При этом фермент из разряда гомогенных катализаторов переходит в разряд гетерогенных, то есть находится в фазе, не связанной ни с исходным субстратом, ни с образуемым продуктом.

Длительность сохранения каталитической активности и ряд свойств ферментов определяются правильностью выбора носителя, метода и условий проведения иммобилизации. Существует несколько принципиально различных подходов, позволяющих связать фермент с носителем: адсорбционные методы и методы химического связывания на поверхности, методы механического включения или захвата, методы химического присоединения.

10.2. Методы физической и химической иммобилизации

Методы иммобилизации путем адсорбции основаны на фиксировании фермента на поверхности различных материалов - неорганических (силикагель, пористое стекло, керамика, песок, обожженная глина, гидроокиси титана, циркония, железа) и органических (хитин, целлюлоза, полиэтилен, ионообменные смолы, вспененная резина, полиуретан с ячеистой структурой). Насколько разнообразны материалы, применяемые для адсорбции ферментов, настолько различны механизмы и прочность связывания фермента с носителем. Характеризуя эти связи, можно говорить о широком их спектре, от простого обрастания носителя до образования полярных, ионных и ковалентных связей.

Адсорбция - это самый простой метод иммобилизации ферментов на поверхности нерастворимых носителей.

Процедура иммобилизации состоит в смешивании в определенных условиях фермента с носителем и инкубации смеси. Затем при помощи фильтрования и центрифугирования проводят отделение нерастворимого компонента смеси от растворимого. В процессе адсорбции фермента на носителе при их взаимодействии возникают солевые связи, а также другие слабые взаимодействия (водородные, ван-дер-ваальсовы). Адсорбция - мягкий метод иммобилизации, при котором влияние носителя на активность фермента минимально, поэтому, как правило, ферменты хорошо сохраняют активность. Недостаток данного метода - непрочность связей. Поэтому при незначительном изменении условий среды (рН, температуры, ионной силы, концентрации продукта) возможна десорбция фермента с поверхности носителя. Более прочными являются связи, основанные на ионном взаимодействии, когда адсорбция поддерживается при определенных значениях рН и ионной силе омывающего фермент раствора.

Методы химического связывания имеют долгую историю и реализуются в различных модификациях. Практически все функциональные группы белков могут быть использованы для связывания катализатора с носителем. Широкое применение нашли реакции, ведущие в присутствии водоотнимающего агента к образованию пептидных связей между аминокислотными группами фермента и карбоксильными группами носителя или, наоборот, - между карбоксильными группами фермента и аминокислотными группами носителя. В качестве водоотнимающего агента используют дициклогексилкарбо-диимид, сшивающим агентом может служить бромциан. Возможно проведение сшивки без участия сшивающих агентов. Перспективным подходом в развитии данного метода является использование в качестве носителя привитых полимеров. Прививая к поверхности полимерного материала боковые ветви, можно регулировать его свойства и влиять на реакционную способность за счет создания на поверхности носителя микроструктур, оптимальных для стабильного функционирования биокатализатора. Пример такого подхода - применение полиэтилена с привитыми поливиниловым спиртом или полиакриловой кислотой. С целью снижения диффузионных затруднений между субстратом и ферментом, а также для облегчения оттока образующихся продуктов, при иммобилизации можно выводить фермент из микроструктуры молекулы носителя. Фермент присоединяют к поверхности носителя через некоторую, определенной длины, химическую последовательность, так называемый спейсер («поясок»).

Иммобилизация путем химической сшивки фермента с носителем характеризуется высокой эффективностью и прочностью связи. Для предотвращения снижения каталитической активности фермента место сшивки удаляют от активного центра катализатора, и присоединение проводят не по белковой части молекулы, а по углеводной. Одним из наиболее эффективных методов иммобилизации с образованием химических связей считают образование ковалентных связей между молекулой носителя и катализатором. Как правило, для ковалентного присоединения носитель нужно предварительно активировать (активацию аффинных носителей проводят, например, бромцианом). Более простым, не требующим предварительной модификации носителя и быстрым методом иммобилизации в простых условиях является металлохелатный метод. Он заключается в иммобилизации ферментов на носителях из полимеров гидроксидов металлов (титана, циркония, олова, железа). Гидроксильные группы вытесняются из координационной сферы того или иного металла функциональными группами фермента, в результате между носителем и ферментом возникает координационная или ковалентная связь. Успех метода определяется рядом условий: в молекуле фермента должны присутствовать группы, играющие роль лигандов и способные стерически контактировать с атомами титана; данные группы должны быть удалены от активного центра. Метод применяют в различных вариантах, с использованием органических и неорганических

носителей, включая ионообменные носители. Природа комплекса может существенно влиять на активность и операционную стабильность иммобилизованного фермента.

Сравнительно новой разновидностью металлохелатного метода является иммобилизация ферментов на основе гидроксидов переходных металлов, в основном титана и циркония. Молекулы фермента закрепляются на поверхности носителя путем образования хелатов. Для реализации данного метода, помимо фермента, необходимо наличие только одного реагента, собственно гидроксида металла.

Недостатком методов иммобилизации на основе физической адсорбции или ковалентного присоединения является необходимость использования достаточно больших количеств катализатора. Более того, химическая модификация, которой подвергаются ферменты в процессе иммобилизации. Может существенно снижать их каталитическую активность. Избежать этого можно при использовании методов иммобилизации ферментов путем включения в полимерную структуру.

В качестве полимерных носителей применяют природные и синтетические материалы (альгинат, желатину, каррагинан, коллаген, хитин, целлюлозу, полиакриламид, фоточувствительные полимеры). Раствор фермента смешивают с раствором мономеров носителя. Далее создают условия для процесса полимеризации, в ходе которого происходит механическое включение фермента в структуру носителя. Важным моментом является равномерность распределения молекул фермента в объеме носителя и однородность получаемых агрегатов. Техника включения зависит от природы и свойств используемого материала, образуемые при этом биосистемы имеют вид гранул, волокон, полимерных сеток, пленок и т.п.

Иммобилизация в полиакриламидный гель (ПААГ), который наиболее часто используется для этих целей, заключается во внесении раствора фермента в раствор мономера (N, метилendiакриламида). Далее в подобранных условиях быстро формируется гель в виде блока. Монолитный гель измельчают, придавая частицам форму кубиков желаемого размера. При использовании желатины или агар-агара вначале подогревают их растворы, затем охлаждают и вносят фермент. В процессе последующего охлаждения происходит формирование геля. Полимеризация альгината происходит в присутствии некоторых катионов. Поэтому на первом этапе смешивают растворы фермента и мономеров этих полисахаридов, далее смесь с помощью дозирующего устройства вносят в раствор, содержащий ионы Ca^{2+} или Ba^{2+} (для альгината) или Al^{3+} , Fe^{3+} , K^+ или Mo^{2+} (для каррагинана), при этом образуются сферические полимерные частицы в виде гранул.

Гели в зависимости от природы используемого полимерного материала отличаются по ряду показателей. Например, гели ПААГ недостаточно прочные, но этого можно избежать при использовании ПААГ, содержащего жесткую арматуру из керамики. При увеличении степени сшивки с целью придания большей прочности гелю возникают проблемы диффузионных затруднений. Альгинатные гели отличаются высокой прочностью и хорошими гидродинамическими свойствами, что не создает препятствий для притока к активным центрам молекул ферментов субстрата и оттоку образуемого продукта. При работе с альгинатом кальция важно отсутствие в иммобилизационной системе хелатирующих агентов (фосфатов, цитратов), которые, связывая кальций, разрушают структуру геля. Привлекательной для использования является иммобилизация ферментов методом инкапсулирования. В этом методе главным является не создание физических или химических сил, необходимых для связывания катализатора с носителем, а удержание раствора, окружающего фермент. В процессе инкапсулирования иммобилизуются не отдельные молекулы фермента, а исходный раствор, содержащий фермент. При использовании метода иммобилизации применительно к ферментам чаще всего применяют коацервацию и межфазовую полимеризацию. Первый прием реализуется без химических реакций и включает фазовое разделение коллоидных частиц полимера, которые ассоциируют вокруг маленьких водных капель и образуют затем непрерывную мембрану. В качестве полимерных материалов при этом используют нитрат или ацетат

целлюлозы, бутадиеновый каучук. При межфазовой полимеризации для образования полупроницаемой мембраны один из реагентов находится в водной, другой - в органической фазе; на границе раздела фаз происходит реакция полимеризации и вокруг диспергированных в органической фазе капель образуется слой полимера. С помощью этого метода могут быть получены мембраны из полиуретана или эпоксидных смол. Полупроницаемые мембраны, покрывающие раствор с ферментом, могут быть изготовлены из различных материалов (полистирола, полиакрилата, полиуретана, полиэфиров, липидов, поликарбонатов и т. д.). Варьируя материалы для получения полупроницаемой мембраны, можно осуществлять контроль размеров молекул. Например, большие по размерам молекулы ферментов удерживаются внутри капсулы, а более мелкие молекулы исходных субстратов и синтезируемых продуктов могут свободно диффундировать через мембрану. Диаметр микросфер может составлять от нескольких микрон до нескольких тысяч микрон при толщине мембран от сотен ангстрем до нескольких микрон. Безусловным преимуществом микрокапсулирования является большая площадь поверхности, приходящаяся на единицу активности иммобилизованного фермента, что позволяет использовать высокие концентрации ферментов в исходном растворе и достигать высокой эффективности их действия. При этом возможно также придать ферменту способность функционирования в неводной среде и получать высокие выходы целевого продукта высокой степени чистоты.

К методу инкапсулирования близок метод обращенных мицелл. Фермент включают в замкнутую структуру из поверхностно-активного вещества (липид, детергент), содержащую микроскопическую каплю воды. Фермент функционирует на границе раздела двух фаз: органической, находящейся в биореакторе, и водной, заключенной в обращенную мицеллу.

Существенный интерес представляет **способ включения ферментов в полые волокна.** Применяют волокна, изготовленные из природных либо синтетических полимерных материалов. Раствор фермента вводят во внутренний объем полых волокон и затем «запечатывают» волокно с обоих концов. Фермент в полости волокон не претерпевает каких-либо химических модификаций, поэтому сохраняет свою активность и свойства.

Иммобилизация методом поперечных сшивок (или химического присоединения) заключается в химическом связывании молекул ферментов между собой путем образования поперечных сшивок. Для образования сшивок применяют различные агенты, несущие две и более реакционно способные группы, которые осуществляют поперечную сшивку ферментов за счет эпокси- и иминогрупп.

В качестве сшивающих агентов широко применяют также глутаровый альдегид, гексаметилендиизоцианат, хлорпроизводные триазина. Метод отличается простотой реализации и позволяет производить сшивку различных по структуре ферментов, а также ферментов с целыми клетками. Однако часто при сшивке может происходить изменение существенное снижение активности катализатора.

Таким образом, методы иммобилизации достаточно разнообразны, причем имеется возможность использования их в сочетании. Например, адсорбцию на носителе с инкапсулированием, включение в гелиевую структуру и адсорбцию и т. д. Рассмотренные методы применяются не только для иммобилизации ферментов, но также и для других биокатализаторов - целых клеток, клеточных органелл, антигенов и др. Ни один из описанных методов не является универсальным, и для каждого типа катализаторов существуют свои предпочтительные методы. Ферменты иммобилизуют различными адсорбционными методами или методом поперечных сшивок, лучшим методом для иммобилизации целых клеток является включение в полимерные структуры.

Помимо создания устойчивых биокаталитических ферментных систем, важнейшей задачей инженерной энзимологии является изучение физико-химических свойств данных систем и разработка научных основ их функционирования и применения.

10.3. Применение иммобилизованных ферментов и клеток

Процессы на основе иммобилизованных ферментов. Сферы применения иммобилизованных ферментов разнообразны - это тонкий органический синтез и преобразование энергии, ферментная аналитика и получение целевых продуктов, конверсия растительного сырья и создание лекарственных препаратов.

Применение иммобилизованных ферментов является сегодня одним из важнейших и динамично развивающихся разделов современной биотехнологии. Объемы выпуска ферментов, применяемых, в промышленных процессах непрерывно возрастают, при этом ведущие западные страны, лидирующие в этой области, ежегодно выпускают ферментов на сотни млн. долларов. Производство протеаз, глюкозоизомераз, ацилтрансфераз достигает сотен и тысяч кг/г.

Внедрение иммобилизованных ферментов в промышленные отрасли и организация на их основе принципиально новых, экологически чистых и компактных биотехнологических процессов дает ощутимый экономический эффект. Для таких процессов разрабатывают специальные биореакторы, имеющие аналогию с реакторами для химических процессов с гетерогенным катализом. Иммобилизованный фермент в таком биореакторе представляет собой неподвижную фазу, через которую протекает субстрат, подлежащий биопревращению. Реакторы бывают периодического и непрерывного действия. Чаще всего фермент, включенный в полимерную структуру, представляет собой малые сферические частицы одинакового размера. Это обеспечивает большую площадь реакционной поверхности и, следовательно, улучшение диффузии. Сферические частицы или гранулы с ферментом максимально плотно упаковывают в аппарате. В результате этого концентрация каталитического агента, участвующего в биотехнологическом процессе, значительно выше по сравнению с ферментационными системами на основе микробных клеток. Повышение концентрации биокатализатора обеспечивает большую производительность аппарата и более высокий выход продукта. Одностадийные превращения субстрата с использованием иммобилизованных ферментов осуществляются обычно в проточных реакторах с перемешиванием, псевдоожиженным слоем, а так же в реакторах с полыми волокнами.

Все представленные системы имеют определенные ограничения в части неравномерного распределения катализатора, а также перепадов давления. Применяют реакторы колонного типа, реакторы с перемешиванием на базе магнитной или подвесной мешалки. В реакторах с перемешиванием возможно разрушение довольно мягких частиц геля. Оригинальна конструкция биореактора «корзиночного» типа, в котором для предотвращения разрушения гранул перемешивание осуществляется за счет вращающейся проволочной «корзины», в ячейках которой иммобилизованы гранулы с включенным ферментом. В данном варианте реализованы два типа иммобилизации: полимерные гранулы с включенными молекулами фермента сами иммобилизованы в ячейках проволочной сетки. Применяются также биореакторы периодического действия, без протока, в которых фермент, включенный в гель в виде монолитного блока, заполняет весь объем аппарата. В толще геля в процессе иммобилизации и формирования монолита или после завершения этого процесса для осуществления газа- и массообмена формируют вертикальные каналы.

Эра биореакторов для иммобилизованных биокатализаторов только начинается; их конструкции непрерывно совершенствуются применительно к различным биотехнологическим процессам, реализуемым на их базе. Эти процессы относятся к сфере органического синтеза и медицины, конверсии растительного сырья и преобразования энергии, производства пищевых веществ и напитков.

Иммобилизованные ферменты в пищевой промышленности. В истории пищевой технологии, насчитывающей тысячелетия, иммобилизованные биокаталитические системы (ферменты, клетки) за последние 20-25 лет вписали совершенно новые страницы,

обозначив принципиальные сдвиги в области самих технологий и в улучшении качества пищевых продуктов. Все большее применение в развитых странах находят биотехнологические процессы получения глюкозо-фруктозных сиропов, оптически активных L-аминокислот из рацемических смесей, диетического безлактозного молока, сахаров из молочной сыворотки, синтеза L-аспарагиновой и L-яблочной кислот из фумаровой кислоты.

Получение глюкозо-фруктозных сиропов, важный с точки зрения диетологии процесс, впервые был реализован в промышленности в 1973 г. американской компанией «Клинтон Корн». В настоящее время это самый крупный промышленный процесс на основе иммобилизованных ферментов.

Фруктоза по сравнению с глюкозой, обладая более приятным вкусом, на 60-70 % слаще, то есть ее потребляется меньше обычного сахара, кроме того, метаболизм фруктозы в организме человека не связан с превращением инсулина, она менее вредна для зубов и т.д. Технологии получения глюкозо-фруктозных сиропов за короткий срок были разработаны и освоены в промышленных масштабах многими западными странами. В 1980 г. их выпуск составил 3.7 млн. тонн. Продукт с товарным названием «изоглюкоза» поступает на рынок в виде сиропов, содержащих глюкозу и фруктозу в соотношении, близком к 1:1; с использованием разделительных процессов типа жидкой хроматографии содержание фруктозы может быть повышено до 90 %.

Биохимическая сущность процесса сводится к превращению (изомеризации) глюкозы, предварительно полученной в результате гидролиза кукурузного или картофельного крахмала, во фруктозу под воздействием иммобилизованной глюкозоизомеразы. Реакция протекает в одну стадию до тех пор, пока в реакционной смеси соотношение глюкозы и фруктозы практически не уравнивается. Конечным продуктом может быть данный раствор; фруктоза может быть отделена из раствора, а глюкоза - подвергнута дальнейшей изомеризации. Процесс протекает непрерывно в реакционных колоннах высотой 5 м, заполненных слоем катализатора - иммобилизованного фермента в виде полимерных гранул, полых волокон, кусочков геля и т. д. Технические детали процесса и способы иммобилизации фермента подробно в литературе не описаны, так как являются секретом производства. Время полуинактивации фермента составляет от 20 до 50 суток, то есть заменять или обновлять катализатор приходится раз в 2-3 месяца. Производительность биореакторов варьирует от 1 до 9 т глюкозо-фруктозного сиропа на 1 кг иммобилизованного фермента. По экономическим оценкам, выполненным в Венгрии на основе анализа производства глюкозо-фруктозных сиропов мощностью 120 тыс. т кукурузного зерна в год, производство такого типа экономичнее в 1.5 раза по сравнению с традиционным получением сахара из сахарной свеклы. Датская компания «Ново» рекомендует в качестве лучших следующие параметры процесса: активность катализатора - 200 межд. ед./г, высота слоя катализатора - 5 м, линейная скорость потока - 3.6 м/ч., производительность реактора - 400 т в сутки.

Корпорацией «Цетус» (США) разработан новый процесс получения 100 % фруктозы из глюкозных сиропов. На первом этапе глюкоза под действием иммобилизованной пиранозо-2-оксидазы окисляется в D-глюкозон, который на втором, химическом, этапе на палладиевом катализаторе практически со 100 % выходом восстанавливается до фруктозы. США планируют к 2000 г. заменить на 30-40 % потребление сахара такими фруктозными сиропами, Япония - резко сократить экспорт сахара за счет биотехнологического процесса изомеризации глюкозы во фруктозу.

Получение L-аминокислот ферментативным разделением химических рацемических смесей D,L-аминокислот реализовано на промышленном уровне фирмой «Танабе Суйяку» в 1969 г. В качестве исходного сырья используют полученные химическим синтезом ацилированные D,L-аминокислоты (метионин, валин, фенилаланин, триптофан), раствор которых пропускают через колонку объемом 1 м³, заполненную иммобилизованной аминокислотой. Фермент гидролизует L-ацил изомеры, после отщепления объемной ацил-

группы более мелкие и растворимые молекулы L-аминокислот выводятся из биореактора через мембрану. В конце концов в реакционной смеси остаются только ацил-аминокислоты, которые при нагревании вновь рацемизируются на D- и L-изомеры. Период полуинактивации фермента, иммобилизованного на полимерной смоле, составляет 65 дней. Периодически в колонку доливают свежую порцию раствора фермента, который вновь адсорбируется смолой. Время работы колонки без смены носителя составило более 8 лет.

В Италии фирмой «Сентрале дель Латте» в середине 80-х годов реализован первый коммерческий процесс получения безлактозного молока. Лактоза, присутствующая в достаточных количествах в молоке и плохо растворимая, вызывает кристаллизацию ряда молочных продуктов и кондитерских изделий, снижая их качество. Кроме этого, некоторая часть населения не может употреблять нативное молоко вследствие недостаточности лактазы, фермента, гидролизующего молочный сахар с образованием глюкозы и галактозы. Молоко после такой обработки приобретает качества диетического продукта. Масштабы производства безлактозного молока возрастают во многих европейских странах.

Получение сахаров из молочной сыворотки в процессе ферментативного гидролиза позволяет получать дополнительные количества сахаристых веществ из отходов молочной промышленности. Первые промышленные процессы гидролиза лактозы молочной сыворотки, с использованием иммобилизованной лактазы осуществлены в 1980 г. в Англии и Франции. Предварительно деминерализованную сыворотку пастеризуют и затем пропускают через ферментационную колонку с иммобилизованной лактазой. Период полуинактивации фермента удается увеличить до 60 суток, мощность установок - 1000 л/ч при 80 % конверсии лактозы. Получаемые при этом глюкоза и галактоза превосходят по степени сладости обычные сахара в 1.5 раза при равных экономических показателях.

Получение L-яблочной кислоты ферментативным способом из L-аспарагиновой кислоты основано на использовании иммобилизованной в геле фумаразы. Яблочная кислота достаточно широко используется в пищевой и фармацевтической промышленности в качестве заменителя лимонной кислоты. Компанией «Танабе Суйяку» в результате иммобилизации фумаразы в карраген удалось повысить ее операционную стабильность при времени полуинактивации свыше 100 суток, при этом продуктивность процесса превращения фумаровой кислоты в яблочную возросла более чем в 5 раз.

Получение L-аспарагиновой кислоты с помощью фермента аспартазы, иммобилизованной в геле, со временем полуинактивации препарата до 30 суток возможно из фумаровой кислоты. Фермент, присоединяя аммиак к двойной связи фумаровой кислоты, в одну стадию образует оптически активную форму L-аспарагиновой кислоты. Процесс реализован также на основе иммобилизованных в гель микробных клеток с дополнительным химическим связыванием, время полуинактивации аспартазы, находящейся в клетках, возросло до 120 суток; технологический процесс практически полностью автоматизирован и реализуется в непрерывном режиме. Производительность установок - до 1.7 т/1 м³ в день.

Помимо представленных и реализованных в промышленных масштабах процессов, иммобилизованные ферменты в настоящее время широко используются в научных исследованиях при разработке новых биотехнологических процессов получения ценных продуктов. Это процесс получения глюкозы из крахмала с участием амилазы и глюкозоамилазы; получение инертного сахара (аналог глюкозо-фруктозных сиропов) из сахарозы с использованием инвертазы. В рамках диетологии разрабатываются процессы получения белковых гидролизатов заданного состава с участием иммобилизованных протеаз. Осваиваются установки для непрерывного ферментативного получения глюкозы из различных целлюлоза содержащих отходов.

Вопросы для самоконтроля

- 1) Имобилизованные ферменты. Их преимущества.
- 2) Основные способы получения ферментов. Сравнить физический и химический.
- 3) Применение иммобилизованных ферментов в различных отраслях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. **Блинов, В.А.** Общая биотехнология / В.А. Блинов. – Саратов: ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ», 2003. – 162с.
2. **Блинов, В.А.** Биотехнология (некоторые проблемы сельскохозяйственной биотехнологии) / В. А. Блинов. – Саратов – Полиграфия Поволжья, 2003. – 196 с.
3. **Орехов, С.Н.** Биотехнология: учебное пособие / С.Н. Орехов, Ю.О. Сазыкин, И.И. Чакалева. – М: Электронное издание, 2006.

Дополнительная

1. **Блинов, В.А.** Общая биотехнология в таблицах, рисунках и схемах / В.А. Блинов. – Саратов: Гарнитура Таймс, 2008. – 102 с.
2. **Живухина, Е.А.** Основы биотехнологии: учебное пособие для высших учебных заведений / Е.А. Живухина, Т.А. Егорова, С.М. Клунова. – М: Издательский центр «Академия», 2003. – 506 с.
3. **Кузьмина, Н.А.** Основы биотехнологии. Учебное пособие для студентов биологического факультета / Н.А. Кузьмина. – Омск: Электронное издание, 2010.
4. **Волова, Т.Г.** Биотехнология: электронное издание, ссылка доступа: <http://polnotext.ru/volova-t-g-biotechnologiya/volova-t-g-biotechnologiya-glava-2-promishlennaya-mikrobiologiya-protsessi-proizvodstva-poleznich-veschestv>

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРОИЗВОДСТВА КОНДИТЕРСКИХ ИЗДЕЛИЙ

11.1. Производство кондитерских изделий

Для производства мучных кондитерских изделий используют в основном муку пшеничную. На качество изделий влияет её сорт и цвет. Количество и качество клейковины, а также крупнота помола.

Важными составными частями муки являются белки и крахмал, выполняющие главную роль в тестообразовании. Свыше 75 % белков пшеничной муки состоят из водонерастворимых белков – глиадина и глютенина, которые способны поглотить воды в 2-2,5 раза больше своей массы, образуя клейковину (таблица 3.1).

Сахар придает мучным изделиям хорошую намокаемость, сладкий вкус, цвет и аромат за счет участия в сахароаминных реакциях, тесто становится мягким и вязким.

Патока, инвертный сироп и мед повышают намокаемость и гигроскопичность изделий, при выпечке они окрашивают в золотисто-желтый цвет поверхность изделий и сохраняют их свежесть. Часть инвертного сиропа можно заменить ферментативными гидролизатами муки, которые содержат продукты гидролиза крахмала - глюкозу и мальтозу.

Жиры - сливочное масло, маргарин, гидрогенизированные жиры и растительное масло делают тесто пластичным, а готовые изделия слоистыми, золотисто- желтого цвета с приятным сдобным вкусом и ароматом. При увеличении количества жира тесто становится рыхлым.

Яичные продукты - это свежие яйца, яичный меланж, яичный порошок. Яичный альбумин и лецитин желтка повышают пищевую ценность изделий и улучшают структуру теста. Особенно это важно при получении сбивного теста. Яичный альбумин, являясь пенообразователем, может заменить при производстве теста химические разрыхлители, а лецитин обладая поверхностно – активным свойством.

Молочные продукты делают тесто мягким, более пластичным, изделия приобретают молочный вкус. Используют молоко цельное, сливки, сметану, творог, сгущенное и сухое молоко, а также вторичные продукты молочного производства - пахту, обезжиренное молоко, молочную сыворотку. Натуральную молочную сыворотку используют вместо воды при замесе теста для вафельных листов, печенья и пряников с уменьшенным расходом сахара. Концентрированная молочная сыворотка, сгущенная до влажности 40 % , представляет собой густую тягучую массу светло- желтого цвета, слегка сладковато-солончатого вкуса [13]. Она богата лактозой, полноценными белками с высоким содержанием лизина, жирами, солями кальция, фосфора и может быть применена для замены 50% сгущенного молока при выработке печенья. Использование сухой молочной сыворотки взамен сухого молока делает изделия более пористыми, эластичной структуры, устойчивыми к затвердеванию.

Химические разрыхлители представляют собой химические соединения, разлагаясь в процессе выпечки, они выделяют газообразные вещества, которые разрыхляют тесто и придают изделиям пористость и увеличивают их объем. Большинство мучных кондитерских изделий содержат значительное количество сахара и жира, которые задерживают развитие дрожжей.

В кондитерской промышленности в основном применяют щелочные химические разрыхлители: двууглекислый натрий и углекислый аммоний.

11.2. Кондитерские изделия специального назначения

Повышение биологической ценности кондитерских изделий удовлетворяют нормам сбалансированного рационального питания различных групп населения в соответствии с возрастом, состоянием здоровья. В решении этой проблемы значительное место занимают изделия специального назначения - диетические; витаминизированные; лечебные.

Диетические изделия характеризуются тем, что из их состава исключены или ограничены отдельные рецептурные компоненты с заменой их на другие пищевые продукты. Такие изделия предназначены для питания лиц с нарушением обмена веществ или используются в профилактических целях.

Из диетических кондитерских изделий наибольший удельный вес занимают изделия для диабетиков. Эти кондитерские изделия вместо сахара содержат его заменители сахарин, ксилит, манит. Маннит не повышает содержание глюкозы в крови, улучшает обмен веществ.

Лечебные изделия изготавливают с добавлением лекарственных веществ. Лекарства, введенные в кондитерские изделия, дают возможность повысить физиологический эффект действующего начала благодаря отсутствию неприятных условных рефлексов, возникающих при приеме лекарств.

Лечебно- профилактическое значение имеют изделия, содержащие йод. Они рекомендуются при недостатке йода, нарушении деятельности щитовидной железы.

Другим направлением по созданию кондитерских изделий специального назначения является использование препаратов пребиотического действия и, в частности, «Эубикор».

«Эубикор» - это современное средство из группы пребиотиков. Основным компонентом пребиотического комплекса Эубикор являются пищевые волокна, входящие в состав пшеничных отрубей. Поступая в кишечник человека, пищевые волокна становятся основой для роста сахаролитических микроорганизмов, которые представляют собой нормальную микрофлору кишечника. К этим микроорганизмам принадлежат, в том числе, и хорошо известные бифидо - и лактобактерии.

Кроме того, растительная клетчатка, входящая в состав пищевых волокон, является мощным сорбентом токсичных веществ эндогенного и экзогенного происхождения, а так же газов, вирусов и других патогенных микроорганизмов.

Пектин, содержащийся в составе пищевых волокон, образует гели, которые осуществляют захват токсинов, что является особенно ценным свойством при интоксикациях и отравлениях.

«Эубикор» является источником пищевых волокон, которые:

- создают условия для самовосстановления измененного микробно - тканевого комплекса кишечника.
- способствуют устранению нарушений в работе желудочно-кишечного тракта.
- обладают избирательными сорбционными свойствами в отношении токсинов и аллергенов.
- способствуют повышению эффективной общей и местной терапии при сопутствующих заболеваниях, сокращению сроков выздоровления.
- способствуют снижению риска возникновения осложнений после перенесенных заболеваний.

Хлопья 5 злаков: из овсяно-пшенично-ячменно-ржано-кукурузных хлопьев содержат: витамин *E*- его недостаток приводит к нарушению обмена веществ, развитию местного кислородного голодания.

витамин *PP*- улучшает углеводный обмен, участвует в тканевом дыхании, оказывает сосудорасширяющее действие.

витамин *B₃*- необходим для обмена аминокислот и участвует в превращении жиров в вещества, управляющие метаболическими путями нашего организма.

витамин В₆- способствует выработке этого витамин микроорганизмами, населяющими кишечник. Витамин В₆ занимает ключевые позиции в азотистом обмене, в процессах синтеза и распада аминокислот.

Овсяные хлопья. Овсяная крупа имеет высокую питательную ценность, химический состав овсянки включает все важнейшие для здоровья компоненты: калий, магний, фосфор, железо, йод. Овсянка нормализует свертываемость крови, помогает работе кишечника, контролирует усвоение жира организмом.

Пшеничные хлопья. В состав этого важнейшего продукта входят крахмал, углеводы, различные белки, а также клетчатка, фосфор, калий, кальций, йод, витамины. Полезные вещества, содержащиеся в хлопьях пшеничных, благотворно влияют на работу кровеносной и нервной систем.

Ячменные хлопья изготовлены из цельных зерен ячменя. В ячменных хлопьях содержатся калий, кальций, фосфор, железо. Употребление в пищу цельных ячменных хлопьев приводит в порядок обмен веществ, выводят из организма токсины и соли тяжелых металлов. Ячменные хлопья богаты пищевыми волокнами – их хорошо применять для очистки организма. Хлопья нормализуют обмен веществ, помогают укрепить стенки кровеносных сосудов, повышают уровень гемоглобина.

Ржаные хлопья. Рожь- жизненно важный продукт питания, включающий микроэлементы: калий, кальций, марганец, ферменты, нуклеиновые кислоты. Ржаное зерно содержит до 67 % углеводов и до 11 % белков. Рожь содержит большое количество клетчатки, ускоряющей выведение шлаковых продуктов.

В настоящее время во всех развитых странах Европы (Франция, Швеция, Чехия и др.) производятся пищевые продукты с включением пребиотиков, поэтому одной из главных задач стоящих перед отечественной пищевой промышленностью является расширение области применения пребиотиков, в т.ч. и в кондитерской отрасли.

Вопросы для самоконтроля

- 1) Производство кондитерских изделий.
- 2) Кондитерские изделия специального назначения.
- 3) Использование препарата «Эубикор».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. **Блинов, В.А.** Общая биотехнология / В.А. Блинов. – Саратов: ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ», 2003. – 162с.
2. **Блинов, В.А.** Биотехнология (некоторые проблемы сельскохозяйственной биотехнологии) / В. А. Блинов. – Саратов – Полиграфия Поволжья, 2003. – 196 с.
3. **Орехов, С.Н.** Биотехнология: учебное пособие / С.Н. Орехов, Ю.О. Сазыкин, И.И. Чакалева. – М: Электронное издание, 2006.

Дополнительная

1. **Блинов, В.А.** Общая биотехнология в таблицах, рисунках и схемах / В.А. Блинов. – Саратов: Гарнитура Таймс, 2008. – 102 с.
2. **Живухина, Е.А.** Основы биотехнологии: учебное пособие для высших учебных заведений / Е.А. Живухина, Т.А. Егорова, С.М. Клунова. – М: Издательский центр «Академия», 2003. – 506 с.
3. **Кузьмина, Н.А.** Основы биотехнологии. Учебное пособие для студентов биологического факультета / Н.А. Кузьмина. – Омск: Электронное издание, 2010.
4. **Волова, Т.Г.** Биотехнология: электронное издание, ссылка доступа: <http://polnotext.ru/volova-t-g-biotechnologiya/volova-t-g-biotechnologiya-glava-2-promishlennaya-mikrobiologiya-protsessi-proizvodstva-poleznich-veschestv>

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПЕРЕРАБОТКИ ОТХОДОВ ПИЩЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВ

12.1. Основные направления экономически выгодной переработки отходов

В настоящее время экологическая биотехнология является одной из значимых отраслей биотехнологии. Непродуманная в ряде случаев деятельность человека оказывает на окружающую среду мощное техногенное воздействие, что сопровождается загрязнением почвы, воды, всей биосферы отходами производств и жизнедеятельности. Бурный научно-технический прогресс имеет и «вторую сторону медали» - большой объем разнообразных отходов, с переработкой которых мы просто не справляемся.

Особенно значительная роль в загрязнении окружающей среды принадлежит органическим отходам. В результате загрязнения почвы и воды органическими веществами подавляется естественная биота, изменяются соотношения между отдельными группами микроорганизмов, направление их метаболизма, ослабляются естественные процессы самоочищения. В районах постоянных загрязнений нарушаются процессы почвообразования, в почве и воде накапливаются неразлагаемые отходы. В загрязненной экосистеме с подавленной полезной микрофлорой развиваются патогенные микроорганизмы. Техногенные и антропогенные нарушения экологического баланса серьезно изменяют санитарное состояние в месте их образования, ухудшают условия жизнеобитания людей. В настоящее время только биотехнологическая конверсия отходов может обеспечить, с одной стороны, выравнивание экологических нагрузок антропогенной деятельности на окружающую среду, а с другой – получение практически значимых веществ различного назначения (биологически активные соединения, органические удобрения и т. д.). Одним из перспективных направлений в этом отношении является использование биотехнологических систем.

Одна из главных экономически выгодных задач технологий, связанных с окружающей средой, — это сохранение природных ресурсов путем повторного использования полезных веществ, содержащихся в отходах. Некоторые уже получили финансовую поддержку со стороны правительств и это принесло свои плоды, но все же пока выход конечных продуктов и стоимость повторного использования биомассы в широких масштабах таковы, что эта технология оказывается экономически невыгодной. Тем не менее, она может найти применение при получении таких, ценных продуктов, как масла, металлы, витамины и пептиды. Получение полезных материалов из отходов имеет два аспекта – извлечение и/или концентрирование полезных веществ из отходов и превращение отходов в полезные материалы.

В целом, усилия экологической биотехнологии концентрируются на трех основных направлениях: 1) биодegradация и биотрансформация органических и неорганических отходов; 2) возобновление ресурсов; 3) получение ценных видов органического топлива.

Безусловно, в рамках одной лекции рассмотреть все аспекты экологической биотехнологии просто невозможно (да и не стоит дублировать самостоятельный курс «Экологическая биотехнология»), приведем ряд примеров биодegradации и биотрансформации органических отходов с целью получения возобновляемых ресурсов (отметим, что такой экономический значимый аспект экологической биотехнологии, как переработка отходов с целью получения биотоплива, будет нами подробно рассмотрен в следующей лекции).

12.2. Биодegradация и биотрансформация отходов

Биодegradация органических соединений, загрязняющих окружающую среду, оправдана только в том случае, если в результате происходит их полная минерализация, разрушение и детоксикация, если же биохимическая модификация этих соединений приводит к повышению их токсичности или увеличивает время нахождения в среде, она становится не только нецелесообразной, но даже вредной.

Рассмотрим процессы биодegradации сложных смесей углеводов и их производных в средах, *загрязненных нефтью*. Источники таких загрязнений могут быть самые разнообразные: промывка корабельных бункеров для горючего, аварии на танкерах в открытом море (основная причина нефтяных загрязнений окружающей среды), утечки в нефтехранилищах и сброс отработанных нефтепродуктов. Сточные воды нефтяной промышленности обычно очищают биологическим способом после удаления большей части нефти физическими способами или с помощью коагулянтов.

С помощью генетического конструирования создан «супермикроб», способный утилизировать большинство основных углеводов нефти. Многие природные штаммы *Pseudomonas putida* несут катаболические плазмиды, каждая из которых кодирует фермент для расщепления одного класса углеводов – плазида ОСТ обуславливает расщепление октана, гексана, декана; ХУЛ – ксилула и толуола; САМ – камфары, НАН – нафталина. Плазмиды САМ и НАН сами способствуют своему переносу, стимулируя спаривание бактерий. В результате последовательных скрещиваний был получен «суперштамм», несущий плазмиды ХУЛ и НАН и гибридную плазмиду, содержащую части плазмид ОСТ и САМ. Этот штамм способен быстро расти на неочищенной нефти, так как он метаболизирует углеводороды гораздо активнее, чем любой из штаммов, содержащих только одну плазмиду. Такие микроорганизмы удобно использовать для очистки нефтяных пятен на суше или море при различных авариях. Для большей эффективности создают микроэмульсию, содержащую бактериальные штаммы и капсулы со смесью основных питательных элементов - азота, фосфора и калия внутри. Добавление этих веществ стимулирует размножение бактериальных штаммов. Применение такого метода позволяет очистить от 70 до 90% загрязненной поверхности, за это же время очищается всего порядка 10-20% необработанной поверхности.

Важной проблемой является биодegradация ксенобиотиков. Напомним, что это за соединения. *Ксенобиотики* – чужеродные для организмов соединения (пестициды, ПАВ, красители, лекарственные вещества и пр.), которые практически не включаются в элементные циклы углерода, азота, серы или фосфора. Дegradация ксенобиотиков может происходить в результате как физических, так и химических процессов. Биологическая трансформация соединений, попавших в окружающую среду, может протекать в различных направлениях, приводя к минерализации, накоплению или полимеризации. Преимущество бактериальной очистки по сравнению с химической в том, что она не вызывает появления нового загрязняющего агента в окружающей среде.

Для биодegradации ксенобиотиков лучше использовать ассоциации микроорганизмов, так как они более эффективны, чем отдельно взятые виды. При этом типы связей в подобной ассоциации могут быть различны. Некоторые микроорганизмы способны изменять молекулу ксенобиотика и делать ее доступной и привлекательной для других микроорганизмов («кометаболизм»). Примером может служить разложение инсектицида паратиона под действием двух штаммов *Pseudomonas* – *P. aeruginosa* и *P. stutzeri*. В некоторых случаях происходит неполное превращение молекулы ксенобиотика - фосфорилирование, метилирование, ацетилирование и т. д., результатом которого является утрата этим веществом токсичности.

Одним из сильных загрязнителей является ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота). Причина в том, что ЭДТА связывает тяжелые металлы, способствуя их

накоплению в почве. Бактерии родов *Pseudomonas* и *Bacillus* способны за две недели разрушить все связи комплекса Fe-ЭДТА. Эти бактерии успешно применяются для очистки бытовых сточных вод, куда попадают детергенты моющих средств. Кроме *Pseudomonas*, биodeградацию ксенобиотиков могут осуществлять и представители родов *Acinetobacter*, *Metviosinus*.

Однако, в некоторых случаях внесение этих микроорганизмов в почву может изменить экосистему местности. Избежать этого можно ограничивая время жизнедеятельности бактерий. Например, облучая штаммы ультрафиолетом, получили мутант, ауксотрофный по лейцину. Бактерии размножают в питательной среде, содержащей лейцин. Суспензией микроорганизмов в питательной среде пропитывают древесную стружку, которую разбрасывают по загрязненной территории. Количество лейцина рассчитывается на время, достаточное для уничтожения вредных примесей, поэтому после очистки мутантные штаммы гибнут.

Еще эффективнее, чем бактерии, справляются с почвенными загрязнителями грибы. Они могут разрушать такие вещества, как пентахлорбензол, пентахлофенол. В одном из экспериментов грибами обработали около 10000 тонн почвы с территории деревоперерабатывающего комплекса. В этой почве содержание пентахлорфенола достигало 700 мг/кг, но за год деятельности оно снизилось до 10 мг/кг, что является допустимой нормой. Бактерии смогли бы переработать эту почву лишь за 4-5 лет. Грибы активны и зимой, разрушают высокомолекулярные полиароматические углеводороды, действуют внеклеточно, выделяя неспецифические ферменты. Стоимость грибной и бактериальной очистки одинаковы, но применение грибов позволяет сокращать сроки деградации и существенно удешевляет ее.

В основе биологической деградации *лигноцеллюлозы* лежит действие целлюлолитических ферментов. Реакционная способность природных целлюлозосодержащих материалов невелика, поэтому сырье для ферментативного осахаривания целлюлозы должно иметь большую поверхность, а микрофибриллярная структура целлюлозы должна быть разрушена. Реакционную способность природных субстратов также снижает наличие лигнина. Наиболее эффективным, а также дорогим и энергоемким способом предварительной подготовки сырья является размол. Поэтому для предобработки используют воздействие 0.5-2% растворов щелочи, гамма-облучение, механо-термообработку в разбавленной серной кислоте с последующей экстракцией лигнина и др. методы.

Гидролиз можно проводить и биологическим способом, с помощью ферментов, выделяемых грибами видов *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Sporotrichum*. Далее при использовании дрожжей можно получить спирт, при использовании бактерий *Klebsiella* или *Aeromonas* - бутанол. Ряд микроорганизмов рода *Clostridium* могут продуцировать уксусную и молочную кислоты, лактат, ацетон из опилок, соломы, отходов сахарного тростника. С помощью *Trichoderma reesii* биомасса разлагается до сахаров.

Ферменты и неразложившаяся целлюлоза поступают в повторные циклы, а остаточный лигнин используется в качестве источника энергии для перегонки спирта. Технология, разработанная в Арканзасском университете и используемая в промышленности нефтяной компанией «Галф ойл», заключается в одновременном осахаривании целлюлозы и сбраживании сахаров, полученных путем гидролиза. Для этого к смеси целлюлозной биомассы и дрожжей добавляют раствор целлюлаз. Остающийся лигнин также используется для перегонки в качестве топлива, но пентозы не сбраживаются. Фирма «Био фьюэл индастриз» из Ричмонда намерена построить в шт. Вирджиния фабрику, на которой в 1985 г. будет производиться 500 т этилового спирта в сутки из 2500 т целлюлозных отходов посредством этой технологии и целлюлаз из *Trichoderma reesii*.

При микробной деградации и конверсии целлюлоз и гемицеллюлоз можно получать этиловый спирт и сырье для химической промышленности (фурфурол, фенолы, крезолы). 200 000 т надлежащим образом переработанной соломы дают 50 000 т этанола и 20 000 т

фурфурола. По оценкам некоторых специалистов, при микробной переработке целлюлозы можно получить до 30% нефтехимикатов. Методы генной инженерии помогут создать штаммы, которые будут лучше адаптированы к этим типам конверсии и дадут больший выход. Это позволит разработать реальную стратегию замещения, которая станет эффективной после 2000 г. (к тому времени химия углерода придет на смену нефтехимии при производстве новых биополимеров, биорастворителей и биодетергентов).

Интересными разработками нашей кафедры в данном направлении является биотрансформация соломы и пивной дробины. Показано, что под действием консорциума микроорганизмов (препараты «Байкал-ЭМ1», «Экофренд») эти трудноразлагаемые отходы «фрментировались» в неплохую кормовую добавку для сельскохозяйственных животных.

Итак, использование достижений в биотехнологии для переработки отходов и предотвращения загрязнения окружающей среды является весьма перспективным.

Вопросы для самоконтроля

- 1) Каковы основные проблемы экологии? С чем они связаны?
- 2) Основные направления экологической биотехнологии. В чем заключается экономически выгодная переработка отходов?
- 3) Приведите примеры биообъектов, используемых для биодеградации нефтяных загрязнений.
- 4) В чем особенности биодеградации ксенобиотиков? Приведите примеры штаммов-продуцентов, участвующих в переработке ксенобиотиков.
- 5) В чем заключаются особенности биопереработки целлюлозосодержащих отходов?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Блинов В.А. Биотехнология (некоторые проблемы сельскохозяйственной биотехнологии), – Саратов, 2003. – 196 с.
2. Биотехнология. Принципы и применение: Пер с англ / Под ред. И. Хиггинса, Д. Беста и Дж. Джонса. — М: Мир, 1988. —480 с.
3. Волова Т.Г. Биотехнология (монография) – Новосибирск: Изд-во Сибирского отделения Российской Академии наук, 1999. – 252 с.
4. Егорова Т. А. Основы биотехнологии / Т.А.Егорова, С.М.Клунова, Е.А.Живухина. — М.: Издательский центр «Академия», 2003. — 208 с.
5. Шевелуха В.С., Калашникова Е.А., Воронин Е.С. и др. Сельскохозяйственная биотехнология. – М., 2003. – 469 с.
6. <http://www.biotechnolog.ru/> Кузьмина Н.А. Биотехнология
7. <http://ru.wikipedia.org/wiki/>
8. <http://top100.rambler.ru>

Дополнительная

1. Биотехнология: свершения и надежды: Пер. с англ./Под ред В. Г. Дебабова.— М.: Мир, 1987.—411 с
2. Блинов В.А. Общая биотехнология. Курс лекций, Ч. 1. – Саратов, 2003. – 161 с.
3. Блинов В.А. Общая биотехнология. Курс лекций, Ч. 2. – Саратов, 2004. – 144 с.
4. Блинов В.А., Сазонова И.А., Зеленцова Е.Н. Биотехнология пивной дробины (консервирование и биотрансформация) (монография). – Саратов, 2006. – 65 с.

БИОТЕХНОЛОГИЯ И БИОБЕЗОПАСНОСТЬ

13.1. Биометаногенез

Условно можно выделить следующие основные направления биотехнологии: биотехнология пищевых продуктов, препаратов для сельского хозяйства, препаратов и продуктов для промышленного и бытового использования, лекарственных препаратов, средств диагностики и реактивов, биотехнология также включает выщелачивание и концентрирование металлов, защиту окружающей среды от загрязнения, деградацию токсических отходов и увеличение добычи нефти.

Растительный покров Земли составляет более 1800 млрд. т сухого вещества, что энергетически эквивалентно известным запасам энергии полезных ископаемых. Леса составляют около 68% биомассы суши, травяные экосистемы - примерно 16%, а возделываемые земли - только 8%.

Для сухого вещества простейший способ превращения биомассы в энергию заключается в сгорании - оно обеспечивает тепло, которое в свою очередь превращается в механическую или электрическую энергию. Что же касается сырого вещества, то в этом случае древнейшим и наиболее эффективным методом превращения биомассы в энергию является получение биогаза (метана).

Метановое «брожение», или биометаногенез, - давно известный процесс превращения биомассы в энергию. Он был открыт в 1776 г. Вольтой, который установил наличие метана в болотном газе. Биогаз, получающийся в ходе этого процесса, представляет собой смесь из 65% метана, 30% углекислого газа, 1% сероводорода (H_2S) и незначительных количеств азота, кислорода, водорода и закиси углерода. Болотный газ дает пламя синего цвета и не имеет запаха. Его бездымное горение причиняет гораздо меньше неудобств людям по сравнению со сгоранием дров, навоза жвачных животных или кухонных отходов. Энергия, заключенная в 28 м^3 биогаза, эквивалентна энергии $16,8\text{ м}^3$ природного газа, 20,8 л нефти или 18,4 л дизельного топлива.

Биометаногенез осуществляется в три этапа: растворение и гидролиз органических соединений, ацидогенез и метаногенез. В энергоконверсию вовлекается только половина органического материала—1800 ккал/кг сухого вещества по сравнению с 4000 ккал при термохимических процессах, но остатки, или шлаки, метанового «брожения» используются в сельском хозяйстве как удобрения. В процессе биометаногенеза участвуют три группы бактерий. Первые превращают сложные органические субстраты в масляную, пропионовую и молочную кислоты; вторые превращают эти органические кислоты в уксусную кислоту, водород и углекислый газ, а затем метанообразующие бактерии восстанавливают углекислый газ в метан с поглощением водорода, который в противном случае может ингибировать уксуснокислые бактерии. В 1967 г. Брайант и др. установили, что уксуснокислые и метанообразующие микроорганизмы образуют симбиоз, который ранее считался одним микробом и назывался *Methanobacillus omelianskii*.

Для всех метанобактерий характерна способность к росту в присутствии водорода и углекислого газа, а также высокая чувствительность к кислороду и ингибиторам производства метана. В природных условиях метанобактерии тесно связаны с водородобразующими бактериями: эта трофическая ассоциация выгодна для обоих типов бактерий. Первые используют газообразный водород, продуцируемый последними; в результате его концентрация снижается и становится безопасной для водородобразующих бактерий.

Метановое «брожение» происходит в водонепроницаемых цилиндрических цистернах (дайджестерах) с боковым отверстием, через которое вводится ферментируемый материал. Над дайджестером находится стальной цилиндрический контейнер, который

используется для сбора газа; нависая над бродящей смесью в виде купола, контейнер препятствует проникновению внутрь воздуха, так как весь процесс должен происходить в строго анаэробных условиях. Как правило, в газовом куполе имеется трубка для отвода биогаза. Дайджестеры изготавливают из глиняных кирпичей, бетона или стали. Купол для сбора газа может быть изготовлен из нейлона; в этом случае его легко прикреплять к дайджестеру, изготовленному из твердого пластического материала. Газ надувает нейлоновый мешок, который обычно соединен с компрессором для повышения давления газа.

В тех случаях, когда используются отходы домашнего хозяйства или жидкий навоз, соотношение между твердыми компонентами и водой должно составлять 1:1 (100 кг отходов на 100 кг воды), что соответствует общей концентрации твердых веществ, составляющей 8-11% по весу. Смесью сбраживаемых материалов обычно засевают ацетогенными и метаногенными бактериями или отстоем из другого дайджестера. Низкий рН подавляет рост метаногенных бактерий и снижает выход биогаза; такой же эффект вызывает перегрузка дайджестера. Против закисления используют известь. Оптимальное «переваривание» происходит в условиях, близких к нейтральным (рН 6,0—8,0). Максимальная температура процесса зависит от мезофильности или термофильности микроорганизмов (30-40° С или 50-60° С); резкие изменения температуры нежелательны.

Обычно дайджестеры загружают в землю, чтобы использовать изоляционные свойства почвы. В странах с холодным климатом их нагревают при помощи устройств, которые применяют при компостировании сельскохозяйственных отходов. С точки зрения питательных потребностей бактерий избыток азота (например в случае жидкого навоза) способствует накоплению аммиака, который подавляет рост бактерий. Для оптимальной переработки соотношение C/N должно быть порядка 30:1 (по весу). Это соотношение можно изменять, смешивая субстраты, богатые азотом, с субстратами, богатыми углеродом. Так, C/N навоза можно изменить добавлением соломы или жома сахарного тростника.

Отходы пищевой промышленности и сельскохозяйственного производства характеризуются высоким содержанием углерода (в случае перегонки свеклы на 1 литр отходов приходится до 50 граммов углерода), поэтому они лучше всего подходят для метанового «брожения», тем более, что некоторые из них получают при температуре, наиболее благоприятной для этого процесса. Желательно перемешивать суспензию сбраживаемых веществ, чтобы воспрепятствовать расслаиванию, которое подавляет брожение. Твердый материал необходимо раздробить, так как наличие крупных комков препятствует образованию метана. Обычно длительность переработки навоза крупного рогатого скота составляет две—четыре недели. Двухнедельной переработки при температуре 35° С достаточно, чтобы убить все патогенные энтеробактерии и энтеровирусы, а также 90% популяции *Ascaris lumbricoides* и *Ancylostoma*.

Еще в 1979 году конференция ООН по науке и технике для развивающихся стран и эксперты "Экономической и социальной комиссии по странам Азии и Тихого океана" подчеркивали достоинства интегрированных сельскохозяйственных программ, использующих биогаз. Такие программы направлены на разработку пищевых культур, а также на производство белка культурами водорослей, создание рыбных ферм, переработку отходов и превращение различных отбросов в удобрения и энергию в виде метана. Надо отметить, что 38% от 95-миллионного поголовья крупного рогатого скота в мире, 72% остатков сахарного тростника и 95% отходов бананов, кофе и цитрусовых приходятся на долю стран Африки, Латинской Америки, Азии и Ближнего Востока. Не удивительно, что в этих регионах сосредоточены огромные количества сырья для метанового «брожения». Следствием этого явился поворот некоторых стран с сельскохозяйственно ориентированной экономикой на биоэнергетику. Например, одним из основных принципов энергетической политики Индии является производство биогаза в сельских районах. В конце 1979 г. в Индии работало менее 100 000 установок. В Китае в

этот же период насчитывалось 10 млн. установок. Сырьем для загрузки установок в этих странах являются отходы животноводческих ферм и птицефабрик. В Центральной Америке построены установки, работающие на отходах производства кофе. В Масатенанго была построена фабрика, выпускающая 90 м³ биогаза в сутки и 900 т органических удобрений в год из отходов кофе. Биогаз обеспечивает работу двигателя мощностью 35 л. с., являющегося частью устройства, которое лущит кофе со скоростью 3 т/ч, вырабатывает 1500 Ватт электроэнергии и обеспечивает работу компрессора. В Израиле с 1974 г. производством биогаза занимается «Ассоциация киббуци индастриз» (КИА). Проведены фундаментальные исследования процесса метаногенеза при активном участии нескольких университетов и промышленных исследовательских институтов под эгидой министерства энергетики. Анаэробное брожение происходит при 55° С. Исследователям удалось добиться повышения выхода биогаза до 4—6,5 м³ в сутки на каждый кубометр объема цистерны дайджестера (что в десять раз превышает обычный выход).

В России сейчас производством и внедрением *установок для получения биогаза* занимается НТЦ «Агроферммашпроект», который предлагает запатентованные в России современные энергосберегающие технологии и оборудование для переработки органических отходов животноводства, полеводства в эффективное экологически чистое удобрение и энергию

13.2. Перспективы производства биогаза

Биогаз состоит из 62% метана и 38% углекислого газа; последний предполагают использовать в теплицах для ускорения фотосинтеза культивируемых растений. Отходы переработки, содержащие только 12% твердого вещества, скармливают рыбам. Это помогло сэкономить половину гранулированных кормов из злаков, которые обычно употребляют при разведении рыб. Как показали эксперименты, богатые белками, минеральными солями и витаминами отходы крупного рогатого скота и овец можно использовать в качестве корма для скота, заменяя ими до 25% сухого вещества поглощаемой пищи.

Производство биогаза путем метанового «брожения» отходов – одно из возможных решений энергетической проблемы в большинстве сельских районов развивающихся стран. И хотя при использовании коровьего навоза только четверть органического материала превращается в биогаз, последний выделяет тепла на 20% больше, чем его можно получить при полном сгорании навоза.

Производство биогаза имеет следующие достоинства: это источник энергии; отходы процесса служат высококачественными удобрениями и в довершение сам процесс способствует поддержанию чистоты окружающей среды. Чтобы обеспечить крупномасштабное развитие и экономическую выгоду предприятий по производству биогаза, необходимо решить целый ряд биохимических, микробиологических и социальных проблем. Усовершенствования касаются следующих областей: сокращения числа стальных элементов в используемом оборудовании; создания оборудования с оптимальной конструкцией; разработки эффективных нагревателей; нагрева дайджестеров за счет солнечной энергии; объединения систем производства биогаза с другими нетрадиционными источниками энергии; конструирования крупномасштабных производственных единиц для сельских или городских общин; оптимального использования переработанных отходов и, наконец, усовершенствования процессов брожения и начальной деградации отходов.

13.3. Биосинтетический этанол

Биотехнология в состоянии внести крупный вклад в решение проблем энергетики посредством производства достаточно дешевого *биосинтетического этанола*, который кроме того является и важным сырьем для микробиологической промышленности при получении пищевых и кормовых белков, а также белково-липидных кормовых препаратов. Крупнейшие мировые производители спирта (по данным на 2000г.): Бразилия – 10,6 млрд.л; США – 6,5 млрд.л; Китай – 3 млрд.л; Индия – 1,7 млрд.л; Россия – 1,3 млрд.л. Стратегическую роль в бразильской экономике спирт приобрел в середине 70-ых годов с введением программы Proalcool, запущенной в 1975 году после мирового нефтяного кризиса в начале 70-ых. В Бразилии производится два вида этилового спирта: негидрированный – используется в качестве добавки к бензину в пропорции 20-24% и не требует изменений в двигателе; гидрированный – используется в качестве топлива и требует специального двигателя, работающего на спирте. Бразилия является первой страной, начавшей использовать негидрированный спирт в качестве добавки к топливу.

Источником углеводов также могут служить *водоросли*. У широко распространенной зеленой водоросли *Botryococcus braunii* (обитающей в пресной и солоноватой воде умеренных и тропических зон) углеводороды в зависимости от условий роста и разновидностей могут составлять до 75% сухой массы. Они накапливаются внутри клеток, и водоросли, в которых их много, плавают на поверхности. После сбора водорослей эти углеводороды легко отделить экстракцией каким-нибудь растворителем или методом деструктивной отгонки. Таким путем может быть получено вещество, аналогичное дизельному топливу и керосину.

Встречается несколько разновидностей *B.braunii*, отличающихся пигментацией и структурой синтезируемых углеводов. Зеленая разновидность содержит линейные углеводороды с нечетным (25-31) числом атомов углерода, бедных двойными связями. Красная водоросль содержит углеводороды с 34-38 атомами углерода и несколькими двойными связями; это так называемые "ботриококкцены". Смысл существования двух разновидностей в настоящее время изучается. Углеводороды накапливаются в клеточной стенке, их синтез связан с метаболической активностью водоросли в фазе роста. Выход углеводов при создании оптимальных условий культивирования может достигать 60 т/га/год для культуры водорослей, выращиваемой в толще воды в природных или искусственных условиях. Для определения перспективности использования *B.braunii* необходимо провести следующие исследования:

- определить условия, обеспечивающие максимальную скорость роста и образования углеводов в лабораторных и полевых условиях;
- выяснить, можно ли добиться скорости роста *B.braunii*, сопоставимой с известной для других водорослей;
- разработать соответствующие методы выращивания, сбора и переработки;
- оценить применимость получаемого продукта как альтернативного источника топлива и смазочных веществ. Исследования, связанные с выделением и возможностью утилизации углеводов *B.braunii*, могут также способствовать лучшему пониманию вопроса о происхождении нефти.

Клеточные мембраны некоторых галобактерий также рассматриваются как альтернативные источники получения энергии. Были получены *фотогальванические элементы на основе бактериородопсина*, генерировавшие электрический ток. Кроме того, отличным экологически чистым и возобновляемым источником энергии является *фотоводород*, который получают с использованием мембран хлоропластов.

Вопросы для самоконтроля

- 1) Получение биогаза.
- 2) Производство биосинтетического этанола.
- 3) Использование *Wetmorella braunii* в биоэнергетике.
- 4) Мембраны галобактерий как альтернативный источник получения энергии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. **Кузьмина, Н.А.** Основы биотехнологии. Учебное пособие для студентов биологического факультета / Н.А. Кузьмина. – Омск: Электронное издание, 2010.
2. **Орехов, С.Н., Сазыкин, Ю.О., Чакалева, И.И.** Биотехнология: учебное пособие. / С.Н. Орехов, Ю.О. Сазыкин, И.И. Чакалева. – М: Электронное издание, 2006.
3. **Шевелуха, В.С., Калашникова, Е.А., Воронин, Е.С.** Сельскохозяйственная биотехнология / В.С. Шевелуха, Е.А. Калашникова, Е.С. Воронин. – М: Высш. Школа, 2003. – 469с.

Дополнительная

1. **Беккер, М.Е., Лиепиныш, Г.К., Райпулис, Е.П.** Биотехнология / М.Е. Беккер, Г.К. Лиепиныш, Е.П. Райпулис Биотехнология. М.: Мир, 1990. – 334с.
2. **Блинов, В.А.** Общая биотехнология (ч.2.) / В.А. Блинов. – Саратов: ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ», 2003. – 188с.
3. **Блинов, В.А.** Общая биотехнология в таблицах, рисунках и схемах / В.А. Блинов. – Саратов: Гарнитура Таймс, 2008. – 102 с.
4. **Живухина, Е.А., Егорова, Т.А., Клунова, С.М.** Основы биотехнологии: учебное пособие для высших учебных заведений / Е.А. Живухина, Т.А. Егорова, С.М. Клунова. – М: Издательский центр «Академия», 2003. – 506 с.

Лекция 14

НОРМАТИВНЫЕ ДОКУМЕНТЫ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДСТВ

Результаты изучения биотехнологических процессов и формирования технологических схем производства продуктов биотехнологии должны оформляться в виде специальных нормативных документов.

Существуют два основных документа по технологии производства и к ним – много дополнительных.

Технические условия на продукт регламентируют качественные и количественные характеристики самого продукта биотехнологии.

Технологический регламент производства определяет способ получения продукта и все относящиеся к нему материалы.

По всем этим документам существуют определенные каноны оформления, стандарты. Этим стандартам должны придерживаться все, кто предполагает работать в области биотехнологии.

14.1. Технические условия на продукт

Технические условия (ТУ) на продукт – это совокупность требований к характеристикам и качеству готового продукта, позволяющие его стандартизировать, сертифицировать и браковать (если продукт требованиям не соответствует).

Технические условия включают в себя:

данные о назначении продукта;

форму выпуска (порошок, гранулы, таблетки, ампулы, суспензия, паста и т.п.); сведения о наличии сортности продукта с учетом его качества;

описание характеристик продукта:

- органолептические: цвет, запах, вкус, хруст, консистенция и т.п.;
- содержание основных компонентов (не менее);
- содержание примесей, в том числе вредных (не более);
- обсемененность (общая и санитарно-показательная микрофлора);
- токсичность, канцерогенность, кумулятивность, для живых культур – патогенность;
- физические характеристики;

требования к сырью (в некоторых случаях);

требования безопасности, в том числе пожаро- и взрывоопасность;

сведения о разрешениях санитарно-эпидемиологической и экологической служб, для лекарств – фармакопейные статьи, для пищевых продуктов – разрешение контрольных служб продуктов питания. Эти сведения могут быть отражены в виде ссылок на гигиенический сертификат, утвержденные ПДК (предельно допустимые концентрации) для воды, почвы, воздуха рабочей зоны и в воздухе селитебной (жилой) зоны. Для микроорганизмов обязательны справка о непатогенности и справка о регистрации во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов; методы контроля вещества в разных средах; способы транспортировки, упаковки, сроки хранения.

Технические условия могут быть постоянными и временными. Временные технические условия выпускают на опытную партию продукта, объем которой оговаривается. Обычно оговариваются также сроки действия утвержденных технических условий.

14.2. Технологический регламент производства

Технологический регламент является довольно объемным комплексным документом, включающим в себя все «ноу-хау» технологии и являющимся поэтому строго охраняемым объектом. Его не разрешают выносить из учреждения и копировать. Тем не менее, студенты на практике обычно начинают с изучения технологического регламента. Этот материал является основой для соответствующих разделов курсовых и дипломных проектов.

Технологический регламент состоит из следующих основных разделов.

1. Характеристика конечной продукции производства.

В этом разделе приводится наименование и номер утвержденного ТУ на данную продукцию и в основном переносятся из ТУ: основное назначение; внешний вид и физико-химические свойства; химические и структурные формулы, молекулярная масса и содержание основного вещества, для многокомпонентных продуктов – их состав; другие данные из ТУ.

2. Химическая схема производства.

Эта схема строится по аналогии с производствами химической технологии, особенно многостадийными химическими синтезами, где почти на каждой стадии происходит то или иное химическое превращение вещества.

В биотехнологии такая схема особенно необходима для процессов биотрансформации и биокатализа, в меньшей степени – для процессов биосинтеза продуктов метаболизма, отличных от биомассы микроорганизмов.

3. Технологическая схема производства.

Технологическая схема производства наглядно (в виде блок-схемы) отображает последовательность выполнения работ в производстве с разделением их по стадиям и операциям технологического процесса, указанием основных материальных потоков (поступление сырья, промежуточных продуктов) и мест образования отходов, сточных вод, выбросов в атмосферу, систем очистки и утилизации.

Каждая стадия и операция должны быть пронумерованы (ТП-1, ТП-2 и т.д.).

В этом же разделе дают сведения о подготовке культуры микроорганизма-продуцента.

4. Аппаратурная схема производства со спецификацией оборудования.

Этот раздел содержит чертеж с аппаратурной схемой производства и спецификацию оборудования, закрепленного за данным производством.

На схеме указывают все оборудование, включая вспомогательное, в том числе приборы и системы автоматического управления.

Все оборудование и приборы изображают и нумеруют в строгой последовательности по ходу технологического процесса.

Спецификация включает в себя наименование, количество, материал, техническую характеристику и регистрационный номер единиц оборудования и приборов.

Такого же типа аппаратурно-технологическую схему выполняют при курсовом и дипломном проектировании.

5. Характеристика сырья, материалов и полупродуктов.

Этот раздел оформляют в виде таблицы с указанием сорта, обозначений и показателей, обязательных для проверки.

Сюда же заносят сведения о характеристике микроорганизма-продуцента. Эти сведения обычно излагают в документе, который называется паспорт на штамм-продуцент. Сюда входят морфологические характеристики, методы диагностирования и испытаний, ссылка на разрешение Санэпиднадзора, номер регистрации по Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов. Очень часто штаммы-продуценты патентуют, и для получения патента обычно предварительно требуются те же документы.

Требования к полупродуктам (т.е. сырью, получаемому непосредственно на предприятии) определяются предприятием или непосредственно регламентом производства.

6. Изложение технологического процесса.

В этом разделе технологический процесс рассматривается по стадиям с учетом временной последовательности проведения операций.

Излагается сущность протекающих процессов с указанием основных и побочных реакций, тепловых эффектов, температур, давления, скоростей, величины рН, рецептур, технологических режимов и т.д.

В заключении для каждой стадии составляют таблицу баланса материальных потоков по форме:

израсходовано на стадии – указывается наименование полупродуктов и сырья, концентрации основного вещества, количество, объем, масса израсходованных ингредиентов;

получено на стадии – с подразделением на готовый продукт (для финишных стадий), отходы производства и потери. Отходы – это неиспользованный продукт. Потери – это безвозвратные потери основного вещества в данном технологическом процессе;

Для отходов указывают содержание ценных веществ («в том числе»).

Содержание работ излагают по операциям (ТП-1, ТП-2 и т.д.), с подзаголовками в следующей последовательности:

- подготовка сырья;
- осмотр и подготовка оборудования перед загрузкой;
- загрузка сырья и полупродуктов;
- ведение технологических процессов и методы контроля;
- выгрузка и передача продуктов, отходов на дальнейшую обработку.

В этом же разделе описывают требования к осмотру и подготовке оборудования: сухость, остатки среды, продувка газом, состояние уплотнения и герметичности, антикоррозионные покрытия, прокладки и т.д.

Описывается как проводится загрузка, особенно загрузка в ходе проведения технологической операции.

Указываются основные параметры процесса и способы их контроля и регулирования.

Приводится сводная таблица «Нормы технологического режима», в которой указывают аппарат, его контролируемые и регулируемые показатели, их числовые значения с возможными отклонениями. В другой сводной таблице дают «возможные неполадки и способы их ликвидации».

7. Материальный баланс.

Раздел содержит сводную таблицу материального баланса по одному из вариантов:

- на единицу выпускаемой продукции;
- на один производственный поток;
- на все производство в целом.

В таблице указывают, сколько израсходовано сырья и полупродуктов и соответственно сколько получено конечного продукта, отходов и каковы потери (влага, газообразные продукты, механически неучтенные потери).

8. Переработка и обезвреживание отходов производства.

В этом разделе дается материальный баланс по перерабатываемым и обезвреживаемым отходам производства.

В сводной таблице приводится краткая характеристика всех отходов производства; таблица содержит следующие графы:

- наименование отхода;
- количество на единицу готовой продукции;
- агрегатное состояние;
- вещества, которые должны быть регенерированы или обезврежены;
- процентное содержание вещества в отходе до и после обработки;
- количество утилизируемого вещества.

9. Контроль производства.

Необходимые данные сводятся в таблицу, в которой предусматриваются следующие графы:

- стадия производства;
- контролируемый параметр;
- значение и размерность нормы;
- методы и средства контроля;
- как производится контроль (его периодичность) и где регистрируется (производственные журналы или диаграммы приборов либо ЭВМ, если имеется автоматизированная система управления).

10. Техника безопасности, пожарная безопасность, производственная санитария.

Содержание этого раздела ясно из названия, правила его оформления даны в специальных нормативных документах.

11. Охрана окружающей среды.

В этом разделе указывают перечень выбросов в окружающую среду, данные о фактической величине выбросов и концентрации содержащихся в них вредных веществ.

Указывают ПДК этих веществ в рабочей зоне, а также ПДВ (предельно допустимый объем выбросов), согласованный с санитарно-эпидемиологическими органами.

Аналогичные данные приводятся по стокам, твердым и жидким отходам.

Указывают мероприятия, обеспечивающие обезвреживание выбросов в атмосферу, стоков и твердых отходов.

12. Перечень производственных инструкций.

Для каждого рабочего места в производственном цикле должна быть разработана производственная инструкция, по которой работает обслуживающий персонал. В регламенте приводится перечень таких инструкций.

13. Техничко-экономические нормативы.

- В этом разделе указывают следующие интегральные характеристики по всему производству:
- выходы целевых продуктов;
- нормы расхода сырья;
- нормы энергозатрат;
- трудовые затраты.

14. Информационные материалы.

Данный раздел включает в себя следующие сведения:

- сведения о разработчиках;
- сведения о производстве на данном предприятии;
- сведения о зарубежных аналогах;
- полные сведения о штамме-продуценте;
- фармакологические свойства (для лекарств);
- обоснование выбора технологии исходя из отчета о научно-исследовательской работе (часто прикладываются сами отчеты);
- обоснование свойств веществ, тепловых расчетов, данных по кинетике и т.д. (со ссылкой на справочные материалы или на отчеты).

14.3. Этапы разработки технологии

Обычно технология производства разрабатывается по этапам. Сначала проводят научные исследования, итогом которых является лабораторная технология. При этом определяется принципиальная возможность получения целевого продукта в лабораторных условиях (не только в колбах, но и в аппаратах небольшого масштаба). Итоговым документом по этому этапу работ является лабораторный регламент.

Следующим этапом работы является создание опытно-промышленной установки. Здесь технология проверяется на установке более крупного масштаба и, кроме того, осуществляется наработка опытных партий продукта в количестве, необходимом для проведения испытаний свойств продукта (для кормовых продуктов – в экспериментах по кормлению животных, для лекарств – для медико-биологического изучения в клинике, для пищевых продуктов – для оценки их качества как продуктов питания и т.д.).

Итогом этого этапа исследований является опытно-промышленный регламент.

Опытно-промышленный регламент является основой для создания исходных данных на проектирование производства, по которым в дальнейшем проектируется и строится промышленная установка по данному производству.

После того как строительство и монтаж оборудования закончены, производство должно быть введено в действие. На этот период создается пусковой регламент, действующий до тех пор, пока в промышленных условиях не будут воспроизведены показатели, предусмотренные в исходных данных. После этого составляется постоянный производственный регламент, действующий в течение всего времени функционирования производства.

Вопросы для самоконтроля

- 1) Каким документом регламентируется качество продукта биотехнологии? Каково его содержание?
- 2) Какой документ используется для описания технологии? Приведите состав документа.
- 3) Каким документом характеризуются штаммы-продуценты, используемые в биотехнологических производствах?
- 4) Что такое гигиенический сертификат, гигиеническое заключение?
- 5) Какими документами регламентируется содержание вредных примесей в выбросах в атмосферу и в стоках?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Бирюков, В.В. Основы промышленной биотехнологии / В.В. Бирюков. – М.: «Колосс» «Химия», 2004. – 296с.
2. Егорова, Т.А. Биотехнология / Т.А. Егорова, Е.А. Живухина, С.М. Клунова. – М.: «Академия», 2010. – 256с.
3. <http://www.cbio.ru/> Интернет-журнал «Коммерческая биотехнология»
4. <http://ru.wikipedia.org/wiki/>

Дополнительная

1. Биотехнология: свершения и надежды: Пер. с англ./Под ред В. Г. Дебабова.— М.: Мир, 1987.—411 с
2. Биотехнология. Принципы и применение: Пер с англ. /Под.ред. И. Хиггинса, Д. Беста и Дж. Джонса. — М: Мир, 1988. —480 с.
3. **Блинов, В.А.** Общая биотехнология. Курс лекций, Ч. 2. / В.А. Блинов;ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ». – Саратов: СГАУ, 2004. – 144 с.
4. **Волова, Т.Г.** Биотехнология (монография) / Т.Г. Волова. – Новосибирск: Изд-во Сибирского отделения Российской Академии наук, 1999. – 252 с.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. **Беккер, М.Е., Лиепиныш, Г.К., Райпулис, Е.П.** Биотехнология / М.Е. Беккер, Г.К. Лиепиныш, Е.П. Райпулис Биотехнология. – М.: Мир, 1990. – 334с.
2. **Блинов, В.А.** Общая биотехнология (ч.1,2) / В.А. Блинов. – Саратов: ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ», 2003. – 162с.
3. **Блинов, В.А.** Биотехнология (некоторые проблемы сельскохозяйственной биотехнологии) / В.А. Блинов. – Саратов: Полиграфия Поволжья, 2003. – 196 с.
4. **Блинов, В.А.** Общая биотехнология в таблицах, рисунках и схемах / В.А. Блинов. – Саратов: Гарнитура Таймс, 2008. – 102 с.
5. **Быков, В.А., Крылов И.А., Манаков, М.Н.** Биотехнология Т.6. Микробиологическое производство биологически активных веществ и препаратов / В.А. Быков, И.А. Крылов, М.Н. Манаков. М.: 1987. – 137с.
6. **Глик, Б., Пастернак, Дж.** Молекулярная биотехнология. Принципы и применение / Б. Глик, Дж. Пастернак. – М.: Мир, 2002. – 589с.
7. **Горобец, А.И.** ЭМ-технология на животноводческих фермах //Надежда планеты.2002; № 4, с.5-6.
8. **Елинов, Н.П.** Основы биотехнологии / Н.П. Елинов. – Спб.: Наука, 1995. – 600с.
9. **Живухина, Е.А., Егорова, Т.А., Клунова, С.М.** Основы биотехнологии: учебное пособие для высших учебных заведений / Е.А. Живухина, Т.А. Егорова, С.М. Клунова. – М: Издательский центр «Академия», 2003. – 506 с.
10. **Кузьмина, Н.А.** основы биотехнологии. Учебное пособие для студентов биологического факультета / Н.А. Кузьмина. – Омск: Электронное издание, 2010.
11. **Макаров, К.А., Кибардин, С.А.** Иммунизированные биопрепараты в медицине / К.А. Макаров, С.А. Кибардин. – М.: Медицина, 1980. – 128с.
12. **Орехов, С.Н., Сазыкин, Ю.О., Чакалева, И.И.** Биотехнология: учебное пособие. / С.Н. Орехов, Ю.О. Сазыкин, И.И. Чакалева. – М: Электронное издание, 2006.
13. **Шевелуха, В.С., Калашникова, Е.А., Воронин, Е.С.** Сельскохозяйственная биотехнология / В.С. Шевелуха, Е.А. Калашникова, Е.С. Воронин. – М: Высш. Школа, 2003. – 469с.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	2
Лекция 1. Биотехнология в пищевой промышленности	3
1.1. Основные объекты и методы биотехнологии.....	3
1.2. Значение биотехнологии для различных отраслей народного хозяйства.	
Биотехнология в пищевой промышленности.....	5
Вопросы для самоконтроля.....	6
Список литературы.....	6
Лекция 2. Основные принципы организации биопроцессов	7
2.1. Основные стадии биотехнологического производства. Биотехнологическая стадия.....	7
2.2. Подготовительная стадия.....	9
2.3. Разделение жидкости и биомассы.....	9
2.4. Выделение продуктов биосинтеза.....	10
2.5. Очистка продукта.....	10
2.6. Концентрирование продукта.....	11
2.7. Получение готовой формы продукта.....	11
2.8. Блок-схемы некоторых биотехнологических производств.....	11
Вопросы для самоконтроля.....	13
Список литературы.....	13
Лекция 3. Типовые технологические приемы биопроцессов	15
3.1. Биореакторы.....	15
3.2. Хемостат и турбидостат.....	16
3.3. Открытые и замкнутые ферментационные системы.....	17
Вопросы для самоконтроля.....	18
Список литературы.....	18
Лекция 4. Теоретические основы биотехнологии	19
4.1. Основные типы биотехнологических процессов.....	19
4.2. Проблемы технологии приготовления питательных сред для биосинтеза.....	19
4.3. Контроль и управление биопроцессами.....	20
Вопросы для самоконтроля.....	21
Список литературы.....	22
Лекция 5. Биотехнология и пищевые продукты	23
5.1. Биотехнологии в пищевой промышленности.....	23
5.2. Микробиологический синтез белка.....	23
Вопросы для самоконтроля.....	24
Список литературы.....	25
Лекция 6. Биологические агенты в биотехнологии	26
6.1. Микробиологические объекты.....	26
6.2. Штаммы-продуценты: свойства, особенности, получение и применение.....	27
Вопросы для самоконтроля.....	30
Список литературы.....	30
Лекция 7. Биокатализ и биотрансформация	31
7.1. Биокатализ и биотрансформация. Общие понятия.....	31
7.2. Преимущества и недостатки биокаталитических процессов.....	31
7.3. Общая оценка процессов биотрансформации.....	32
Вопросы для самоконтроля.....	33
Список литературы.....	33
Лекция 8. Хлебобулочные изделия функционального назначения	34
8.1. Хлеб в питании человека.....	34
8.2. Использование функциональных добавок в хлебопечении.....	35

Вопросы для самоконтроля.....	37
Список литературы.....	37
Лекция 9. Пребиотики. Пищевые волокна как компоненты продуктов функционального питания.....	38
9.1. Пребиотики.....	38
9.2. Пищевые волокна.....	39
Вопросы для самоконтроля.....	41
Список литературы.....	41
Лекция 10. Биотехнологические процессы с использованием ферментов.....	43
10.1. Преимущества иммобилизованных ферментов.....	43
10.2. Методы физической и химической иммобилизации.....	43
10.3. Применение иммобилизованных ферментов и клеток.....	47
Вопросы для самоконтроля.....	50
Список литературы.....	50
Лекция 11. Биотехнологические аспекты производства кондитерских изделий.....	51
11.1. Производство кондитерских изделий.....	51
11.2. Кондитерские изделия специального назначения.....	52
Вопросы для самоконтроля.....	53
Список литературы.....	53
Лекция 12. Биотехнологические аспекты переработки отходов пищевых производств.....	54
12.1. Основные направления экономически выгодной переработки отходов.....	54
12.2. Биодegradация и биотрансформация отходов.....	55
Вопросы для самоконтроля.....	57
Список литературы.....	57
Лекция 13. Биотехнология и биобезопасность.....	58
13.1. Биометаногенез.....	58
13.2. Перспективы производства биогаза.....	60
13.3. Биосинтетический этанол.....	61
Вопросы для самоконтроля.....	62
Список литературы.....	62
Лекция 14. Нормативные документы биотехнологических производств.....	63
14.1. Технические условия на продукт.....	63
14.2. Технологический регламент производства.....	64
14.3. Этапы разработки технологии.....	67
Вопросы для самоконтроля.....	67
Список литературы.....	67
Библиографический список.....	69
Содержание.....	70