

2. ВВЕДЕНИЕ В БИОТЕХНОЛОГИЮ

Раздел 2. Методы

производства

биотехнологических

препаратов в современном

мире

Тема 1. Сырье для биотехнологических препаратов

Любое производство начинается с сырья. Общий объем биотехнологической продукции в мире измеряется в миллионах тонн в год. В микробиологической промышленности наибольшая доля сырья (более 90 %) идет на производство этанола. Производство хлебопекарных дрожжей требует 5 % расходуемого в микробиологической промышленности сырья, антибиотики — 1,7 %, органические кислоты и аминокислоты — 1,65 %.

Ферментная биотехнология является крупным потребителем крахмала, так как только одной фруктозной патоки производится свыше 3,5 млн в год. Сырье в биотехнологических производствах занимает первое место в статьях расходов и составляет 40—65 % общей стоимости продукции.

Биотехнологии, основанные на культивировании клеток и тканей растений и животных, активно развиваются, но доля промышленного производства такой продукции остается мизерной.

Тема 1. Сырье для биотехнологических препаратов

Микроорганизмы способны ассимилировать любое органическое соединение, поэтому потенциальными ресурсами для микробиологической биотехнологии могут служить все мировые запасы органических веществ, включая первичные и вторичные продукты фотосинтеза, а также запасы органических веществ в недрах Земли.

Но, к сожалению, каждый конкретный вид микроорганизмов, используемый в биотехнологии, весьма избирателен к питательным веществам, и органическое сырье (кроме лактозы, сахарозы и крахмала) без предварительной химической обработки малопригодно для микробного синтеза. Тем не менее целлюлозосодержащее сырье после химического или ферментативного гидролиза и очистки от ингибирующих или балластных примесей (фенол, фурфурол, оксиметилфурфурол и др.) может быть использовано в биотехнологическом производстве. Каменный уголь, природный газ и древесина могут служить сырьем для химического синтеза технических спиртов или уксусной кислоты, а последние, в свою очередь, являются отличным сырьем для микробиологической промышленности.

Тема 1. Сырье для биотехнологических препаратов

Достаточно дешевым источником углеводов для производства микробного белка является растительная биомасса. Любое растение содержит разнообразные сахара. Целлюлоза - полисахарид, состоящий из молекул глюкозы. Гемицеллюлоза состоит из остатков арабинозы, галактозы, маннозы, фруктозы. Проблема в том, что полисахариды древесины связаны жесткими оксифенилпропановыми звеньями лигнина - полимера, почти не поддающегося разрушению. Поэтому гидролиз древесины происходит только в присутствии катализатора - минеральной кислоты и при высоких температурах. При этом образуются моносахара - гексозы и пентозы. На жидкой, содержащей сахара, фракции гидролизата выращивают дрожжи. При кислотном гидролизе древесины образуется ряд побочных продуктов (фурфурол, меланины), а из-за высоких температур может произойти карамелизация сахаров. Эти вещества препятствуют нормальному росту дрожжей, их отделяют от гидролизата и по возможности используют. В качестве продуцентов используют штаммы *Candida scotti* и *C. tropicalis*.

Наиболее крупным производителем сырья для гидролизной промышленности являются деревообрабатывающие предприятия, отходы которых достигают ежегодно десятки миллионов тонн. К сожалению, нерационально или не используются вообще отходы производства лубяных волокон (из льна и конопли), картофелекрахмального производства, пивоваренной, плодоовощной, консервной промышленности, свекловичный жом.

Тема 1. Сырье для биотехнологических препаратов

Особого внимания заслуживают способы прямой биоконверсии продуктов фотосинтеза и их производных в белок с помощью грибов. Эти организмы благодаря наличию мощных ферментных систем способны утилизировать сложные растительные субстраты без предварительной обработки. Исследования условий биоконверсии растительных субстратов в микробный белок активно ведутся в США, Канаде, Индии, Финляндии, Швеции, Великобритании, в нашей стране и других странах мира. Однако в литературе сведения о широкомасштабном производстве белков микробного происхождения немногочисленны. Наиболее известным и доведенным до стадии промышленной реализации является процесс "Ватерлоо", разработанный в университете Ватерлоо в Канаде. Это процесс, основанный на выращивании целлюлозоразрушающих грибов *Chaetomium cellulolyticum*, можно осуществлять как в глубинной культуре, так и поверхностным методом. Содержание белка в конечном продукте (высушенном грибном мицелии) составляет 45%. Финская фирма "Тампелла" разработала технологию и организовала производство белкового кормового продукта "Пекило" на отходах целлюлозно-бумажного производства. Продукт содержит до 60% протеина с хорошим аминокислотным профилем и значительное количество витаминов группы В.

Тема 1. Сырье для биотехнологических препаратов

В большинстве стран - производителей молока традиционным способом утилизации сыворотки является скармливание её животным. Степень конверсии белка сыворотки в белок животного весьма невысока (для выработки 1 кг животного белка необходимо 1700 кг сыворотки). В последние 10-15 лет из сыворотки методом ультрафильтрации выделяют белки высокого качества, на основе которых делают заменители сухого обезжиренного молока и другие продукты. Концентраты можно использовать как пищевые добавки и компоненты детского питания. Из сыворотки производится и молочный сахар - лактоза, применяемая в пищевой и медицинской промышленности. При всем при этом объем промышленной переработки сыворотки составляет 50-60% от её общего производства. Следовательно, налицо большие потери ценнейшего молочного белка и лактозы. Более того, возникает проблема утилизации отходов, так как процесс естественного разложения сыворотки происходит крайне медленно. Лактоза молочной сыворотки может служить источником энергии для многих видов микроорганизмов, сырьем для производства продуктов микробного синтеза (органических кислот, ферментов, спиртов, витаминов) и белковой биомассы. Из всех известных микроорганизмов самым высоким коэффициентом конверсии белка сыворотки в микробный белок обладают дрожжи. Способность к ассимиляции лактозы имеется примерно у 20% всех известных видов дрожжей. Гораздо реже встречаются дрожжи, сбраживающие лактозу. Активный катаболизм лактозы особенно характерен для дрожжей из рода *Kluveromyces*. Эти дрожжи можно использовать для получения на молочной сыворотке кормового белка, этанола, препаратов β -глюкозидазы.

Тема 1. Сырье для биотехнологических препаратов

Впервые дрожжи на молочной сыворотке стали выращивать в Германии. В качестве продуцентов применяли различные штаммы сахаромицетов. Разработаны способы получения микробных продуктов, основанные на использовании лактозы как монокультурой, так и смесью дрожжей и бактерий. В настоящее время в качестве продуцентов используют дрожжи родов *Candida*, *Trichosporon*, *Torulopsis*. Молочная сыворотка с выросшими в ней дрожжами по биологической ценности значительно превосходит исходное сырье и её можно использовать в качестве заменителя молока. Приведенный перечень микроорганизмов и процессов получения белка одноклеточных не является исчерпывающим. Однако потенциал этой новой отрасли производства используется далеко не полностью. Кроме того, мы еще не знаем всех возможностей деятельности микроорганизмов в качестве продуцентов белка, но по мере углубления наших знаний, они будут расширены.

Тема 1. Сырье для биотехнологических препаратов

Из органического сырья наибольшее внимание биотехнологов привлекает крахмал, хотя для его использования микроорганизмами требуется сложный комплекс амилалитических ферментов, которым владеют только некоторые виды микроорганизмов (например, грибы рода *Aspergillus*, бактерии *Bac. subtilis* и др.). Много крахмала расходуется для производства этанола, а также для изготовления фруктозных сиропов. Из-за того, что запасы крахмалосодержащего сырья в нашей стране и мире ограничены, целесообразно использовать для целей биотехнологии мелассу, глюкозное сырье, метанол и этанол.

При выборе сырья учитывают не только физиологические потребности выбранного продуцента, но и стоимость сырья.

Тема 1. Сырье для биотехнологических препаратов

Большинство микроорганизмов хорошо ассимилирует углеводы. При катаболизме (процессе метаболического распада (деградации) сложных веществ на более простые или окисления какого-либо вещества..) большое значение имеют строение углеродного скелета молекул (прямой, разветвленный или циклический) и степень окисления углеродных атомов. Легкодоступными считаются сахара, особенно гексозы, за ними следуют многоатомные спирты (глицерин, маннит и др.) и карбоновые кислоты.

До недавнего времени существовало мнение, что органические кислоты малодоступны для большинства микроорганизмов, однако на практике довольно часто встречаются микроорганизмы, успешно утилизирующие органические кислоты, особенно в анаэробных условиях.

Низкомолекулярные спирты (метанол, этанол) можно отнести к числу перспективных видов микробиологического сырья, так как их ресурсы существенно увеличиваются благодаря успешному развитию технологии химического синтеза. Многие дрожжи родов *Candida*, *Hansenula*, *Rhodospiridium*, *Endomycopsis* и др. способны ассимилировать этанол. Дрожжи родов *Pichia*, *Candida*, *Torulopsis* и др. и бактерии, принадлежащие родам *Methylobacter*, *Protaminobacter*, *Flavobacterium* и др., используют в качестве единственного источника углерода метанол и образуют биомассу с высоким содержанием белков (60—70%).

Тема 1. Сырье для биотехнологических препаратов

Побочные продукты производства

Многие ценные виды побочной продукции раньше считались отходами производства. В канализацию спускали воду после замачивания кукурузных зерен при их переработке в крахмал и глюкозу. Теперь эту воду упаривают, получая экстракт, и используют в микробиологической промышленности. Успешно используют отходы химического производства (смесь карбоновых кислот — янтарной, кетоглутаровой, адипиновой) и др.; сульфитный щелок, зерновую и картофельную барду, мелассу (**чёрная патока**— кормовая патока, побочный продукт сахарного производства; сиропообразная жидкость тёмно-бурого цвета со специфическим запахом), **гидрол** (отход крахмалопаточного производства; сиропообразная однородная жидкость тёмно-коричневого цвета, получающаяся при вторичной кристаллизации гидратной глюкозы из растворов осахаренного крахмала. В гидроле содержится 65—66% сухих веществ. Сбраживается около 70% редуцирующих веществ (это сахаров (глюкоза, фруктоза, мальтоза и лактоза), восстанавливающие щелочные растворы меди и других поливалентных металлов). Применяется в производстве питательных сред, этанола и комбинированных кормов) и т. д.

Тема 1. Сырье для биотехнологических препаратов

Комплексное использование всей побочной продукции производства далеко от совершенства. В нашей стране ежегодно остается неиспользованной или нерационально используется около 1 млн т лактозы, содержащейся в сыворотке и пахте (обезжиренные сливки, побочный продукт, получаемый при производстве масла из коровьего молока). В США из всего количества молочной сыворотки, образующейся при производстве сыра (ежегодно 20 млн т), половина теряется со сточными водами. В то же время известно, что из 1 т сыворотки можно получить около 20 кг сухой биомассы дрожжей. Кроме того, из сепарированной бражки можно выделить дополнительно около 4 кг протеина. Нерационально используется картофельный сок, выделяемый из картофеля при производстве крахмала, а также альбуминное молоко, получаемое из сыворотки.

В микробиологической промышленности используется ряд других побочных продуктов. В дальнейшем необходимо учесть потенциальные возможности постоянно возобновляющихся сырьевых ресурсов — первичных продуктов фотосинтеза, в первую очередь гидролизатов (продуктов, которые получают в процессе гидролиза. «Гидролиз» в буквальном переводе с древнегреческого — это процесс раздробления какого-нибудь вещества при помощи воды) древесины растений.

Тема 1. Сырье для биотехнологических препаратов

В 1939 г. В. О. Таусоном была установлена способность разных видов микроорганизмов использовать в качестве единственного источника углерода и энергии n-алканы и некоторые фракции нефти. Отличительной особенностью углеводородов по сравнению с другими видами микробиологического сырья является низкая растворимость в воде. Этим объясняется тот факт, что только некоторые виды микроорганизмов в природе способны ассимилировать углеводороды.

Тема 1. Сырье для биотехнологических препаратов

В качестве источников вещества и энергии микроорганизмы могут использовать и другие субстраты - нормальные парафины и дистилляты нефти, природный газ, спирты.

Для выращивания микроорганизмов с целью получения белка хорошо бы иметь богатый углеродом, но дешевый субстрат. Этому требованию вполне отвечают нормальные (неразветвленные) парафины нефти. Выход биомассы может достигать при их использовании до 100% от массы субстрата. Качество продукта зависит от степени чистоты парафинов. При использовании парафинов достаточной степени очистки, полученная дрожжевая масса может успешно применяться в качестве дополнительного источника белка в рационах животных. Первый в мире крупный завод кормовых дрожжей мощностью 70 000 т. в год. был пущен в 1973 г. в СССР. В качестве сырья на нем использовали выделенные из нефти н-алканы и несколько видов дрожжей, способных к быстрому росту на углеводородах: *Candida maltosa*, *Candida guilliermondii*, *Candida lipolytica*. В дальнейшем именно отходы от переработки нефти служили главным сырьем для производства дрожжевого белка, которое быстро росло и к середине 80-х гг. превысило 1 млн. т. в год, причем в СССР кормового белка получали вдвое больше, чем во всех остальных странах мира, вместе взятых. Однако в последующем масштабы производства дрожжевого белка на углеводородах нефти резко сократились. Это произошло как в результате экономического кризиса 90-х гг., так и из-за целого ряда специфических проблем, с которыми связано это производство. Одна из них - необходимость очистки готового кормового продукта от остатков нефти, имеющих канцерогенные свойства.

Тема 1. Сырье для биотехнологических препаратов

В нашей стране мало районов, пригодных для выращивания сои, являющейся основным источником белковых добавок. Поэтому налажено крупнотоннажное производство кормовых дрожжей на *n*-парафинах. Действует несколько заводов мощностью от 70 до 240 тыс. тонн в год. Сырьем служат жидкие очищенные парафины.

Одним из перспективных источников углерода для культивирования продуцентов белка высокого качества считается метиловый спирт. Его можно получать методом микробного синтеза на таких субстратах, как древесина, солома, городские отходы. Использование метанола в качестве субстрата затруднено из-за его химической структуры: молекула метанола содержит один атом углерода, тогда как синтез большинства органических соединений осуществляется через двухуглеродные молекулы. На метаноле как на единственном источнике углерода и энергии способны расти около 25 видов дрожжей, в том числе *Pichia polymorpha*, *Pichia anomala*, *Yarrowia lipolytica*. Наилучшими продуцентами на этом субстрате считаются бактерии, потому что они могут расти на метаноле с добавлением минеральных солей. Процессы получения белка на метаноле достаточно экономичны. По данным концерна Ай-Си-Ай (Великобритания), себестоимость продукта, производимого на метаноле, на 10-15% ниже, чем при аналогичном производстве, базирующемся на основе высокоочищенных *n*-парафинов. Высокобелковые продукты из метанола получают фирмы ряда развитых стран мира: Великобритании, Швеции, Германии, США, Италии. Продуцентами белка служат бактерии рода *Methylomonas*. Выращивание на метаноле метилотрофных бактерий, таких как *Methylophilus methylotrophus*, выгодно, так как они используют одноуглеродные соединения более эффективно. При росте на метаноле бактерии дают больше биомассы, чем дрожжи. Первая реакция окисления метанола у дрожжей катализируется оксидазой, а у метилотрофных прокариот - дегидрогеназой. Ведутся генно-инженерные работы по переносу гена метанолдегидрогеназы из бактерий в дрожжи. Это позволит объединить технологические преимущества дрожжей с эффективностью роста бактерий.

Тема 1. Сырье для биотехнологических препаратов

Использование этанола как субстрата снимает проблему очистки биомассы от аномальных продуктов обмена с нечетным числом углеродных атомов. Стоимость такого производства несколько выше. Биомассу на основе этанола производят в Чехословакии, Испании, Германии, Японии, США.

В США, Японии, Канаде, ФРГ, Великобритании разработаны технологические процессы получения белка на природном газе. Выход биомассы в этом случае может составлять 66% от массы субстрата. В разработанном в Великобритании процессе используется смешанная культура: бактерии *Methylomonas*, усваивающие метан, *Nuromicrobium* и *Pseudomonas*, усваивающие метанол, и два вида неметилотрофных бактерий. Культура характеризуется высокой скоростью роста и продуктивностью. Главные достоинства метана (кстати сказать, основного компонента природного газа) - доступность, относительно низкая стоимость, высокая эффективность преобразования в биомассу метанооксиляющими микроорганизмами, значительное содержание в биомассе белка, сбалансированного по аминокислотному составу. Бактерии, растущие на метане хорошо переносят кислую среду и высокие температуры, в связи с чем устойчивы к инфекциям.

Тема 1. Сырье для биотехнологических препаратов

Субстратом для микробного синтеза может быть и минеральный углерод - углекислый газ. Окисленный углерод в данном случае с успехом восстанавливается микроводорослями при помощи солнечной энергии и водородоокисляющими бактериями при помощи водорода. На корм скоту используют суспензию водорослей. Для работы установок по выращиванию водорослей необходимы стабильные климатические условия - постоянные температуры воздуха и интенсивность солнечного света.

Наиболее перспективно получение белка с помощью водородоокисляющих бактерий, которые развиваются за счет окисления водорода кислородом воздуха. Энергия, высвобождающаяся в этом процессе, идет на усвоение углекислого газа. Для получения биомассы используются, как правило, бактерии рода *Hydrogenomonas*. Первоначально интерес к ним возник при разработке замкнутых систем жизнеобеспечения, а затем их стали изучать с точки зрения использования в качестве продуцентов высококачественного белка. В институте микробиологии Геттингенского университета (Германия) разработан способ культивирования водородоокисляющих бактерий, при котором можно получать 20 г сухого вещества на 1 литр суспензии клеток. Возможно, в будущем эти бактерии станут основным источником пищевых микробных белков.

Тема 1. Требования к качеству сырья

Биотехнологическая продукция составляет миллионы тонн в год, поэтому сырья нужно много и желательно, чтобы оно было качественным.

К сырью для биотехнологических производств предъявляют ряд требований:

- оно должно обеспечивать образование требуемого продукта;
- среда должна быть доступной (для дешевых продуктов, а для очень дорогих можно применять дорогие среды);
- питательная среда должна обеспечить легкое выделение продукта;
- среда должна быть не токсичной и не загрязнять окружающую среду.

Тема 1. Требования к качеству сырья

Многие процессы микробиологического синтеза характеризуются большим расходом исходного сырья на выработку единицы готовой продукции. Значительная часть питательных веществ среды либо не усваивается микроорганизмами, либо расходуется на образование различных побочных продуктов (к ним может относиться и биомасса, если идет процесс биосинтеза метаболита). В этой связи вопросы рационального использования сырья, его удешевления и повышения качества имеют особое значение для микробиологической промышленности.

Тема 1. Требования к качеству сырья

Одна из основных трудностей при реализации биотехнологических процессов в промышленных условиях — низкое качество и нестандартность сырья, главным образом природного происхождения. Колебания химического состава природного сырья и его качества связаны прежде всего с тем, что исходные продукты (например, зерно кукурузы или пшеницы) выращивают в разных климатических условиях. Важную роль играют условия и сроки хранения, целостность зерна и другие факторы.

Большое значение имеет и технология переработки сырья. Так, кукурузный экстракт приготавливают путем упаривания. Его необходимо проводить при температуре не выше 40 °С, в противном случае многие термолабильные компоненты разрушаются.

Тема 1. Требования к качеству сырья

Колебания качества сырья связаны также с тем, что многие важные его виды для процессов биосинтеза (кукурузный экстракт, гидрол, меласса и др.) не являются основной продукцией или это могут быть отходы производства. Технические условия на такие виды сырья, как правило, не разработаны. Во многих случаях требования к сырью не удается четко сформулировать. Еще одна проблема сырьевого обеспечения биотехнологических производств состоит в том, что многие виды сырья (глюкоза, лактоза, подсолнечное масло и др.) представляют собой ценные пищевые продукты. Отсюда их высокая стоимость и перебои в снабжении этим сырьем.

Каковы же основные требования к «идеальному» сырью для процессов микробиологического синтеза? Оно должно быть не только доступным, дешевым, но и иметь стандартный состав, быть стабильным при хранении, хорошо растворяться в воде, легко усваиваться микроорганизмами, не должно относиться к пищевым продуктам.

Тема 1. Требования к качеству сырья

Среди возможных путей решения сырьевой проблемы назовем следующие:

- повышение эффективности использования компонентов путем предварительной подготовки питательных сред (измельчение, гидролиз, обогащение);
- повышение уровня стандартности сырья, выявления и внесения в технические условия на сырье параметров, характеризующих его биологическую доступность;
- поиск новых, нетрадиционных источников сырья, в первую очередь возобновляемых и недефицитных;
- подбор для каждого технологического процесса резервных видов сырья на случай перебоев со снабжением основного.

Тема 1. Требования к качеству сырья

Всё сырьё можно разделить на несколько групп.

- Углеродсодержащее сырьё – глюкоза, сахароза, лактоза, крахмал, спирты, органические кислоты и т. д.

Глюкоза - $C_6H_{12}O_6$ кристаллическая, может содержать воды не более 9 %, золы - не более 0,07 %, (в том числе не более 0,004 % железа). В сухом веществе должно быть не менее 99,5 % редуцирующих веществ.

Сахароза - (свекловичный сахар, тростниковый сахар)

$C_{12}H_{22}O_{11}$ техническая содержит не менее 99,75 % сахарозы, не более 0,003 % золы. Влажность до 0,15 %.

Лактоза – (молочный сахар) $C_{12}H_{22}O_{11}$, получаемая из молочной сыворотки, является отходом при изготовлении масла и сыра. После сгущения до концентрации сахаров 50 % и кристаллизации получают концентрат лактозы.

Тема 1. Требования к качеству сырья

Лактозный сахар – сырец содержит не менее 92 % сахара, не более 3 % воды, 2 % золы и 1 % молочной кислоты. Количество белка не регламентировано, но обычно оно не превышает 3 %.

Крахмал представляет собой смесь полисахаридов, встречающихся в растениях в виде зерен (запасной углевод растений). Получают в промышленном масштабе из картофеля и кукурузы. Под действием ферментов микроорганизмов крахмал гидролизуется до глюкозы. В зависимости от сорта (высший, I, II, III) содержание золы в крахмале достигает 0,35 - 1,2 %.

Тема 1. Требования к качеству сырья

Метиловый спирт (метанол) CH_3OH представляет собой бесцветную, легкоподвижную жидкость, по запаху напоминающую этиловый спирт. Хорошо растворяется в воде, легко усваивается многими микроорганизмами. Метиловый спирт может быть получен из природного газа, нефти, каменного угля. Перспектива использования метилового спирта во многом зависит от эффективности способа его получения.

Следует помнить, что метиловый спирт - сильный яд для человека. Приём внутрь 30 мл. метилового спирта смертелен.

Тема 1. Требования к качеству сырья

Этиловый спирт (этанол) C_2H_5OH является перспективным сырьём для выращивания микроорганизмов. Этиловый спирт хорошо смешивается с водой, нетоксичен, получаемая на нём биомасса не требует специальной очистки. В качестве источника углерода могут использоваться все марки этилового спирта, получаемого как микробиологическим, так и химическим путём. В этиловом спирте допускается присутствие незначительных количеств изопропилового спирта, серусодержащих соединений, органических кислот, сложных эфиров, диэтилового эфира, нерастворимых в воде веществ.

Тема 1. Требования к качеству сырья

Уксусная кислота CH_3COOH с содержанием основного вещества не менее 60 %, а формальдегида HCHO и муравьиной кислоты HCOOH - не более 1 % может быть использована в качестве источника углерода.

К этой же группе относятся различные отходы и побочные продукты: меласса, зерновая и картофельная барда, кукурузная мука, мелассная барда, ацетонобутиловая барда.

Меласса - побочный нестандартный продукт сахарной промышленности, который остаётся после второго отделения кристаллов сахара. Цвет – тёмно – коричневый, плотность 1,35 - 1,40 г/см³. Меласса содержит 61- 68 % сухих веществ, 40 - 55 % сахарозы. Кроме того, в ней имеется 0,5 - 2,0 % инвертного сахара и 0,5 - 2,5 % раффинозы. В мелассе содержится 1,1 - 1,5 % азота, причем третья часть его находится в форме бетаина, использовать который микроорганизмы не могут. В состав мелассы входят многие аминокислоты (аспаргиновая, глутаминовая, лейцин, изолейцин, тирозин) и витамины группы В (биотин, рибофлавин, инозит, никотиновая и пантотеновая кислоты). Особенно большое значение имеет биотин (его содержание - 80 мг/т).

Тема 1. Требования к качеству сырья

В мелассной золе много калия (30 - 40 %), магния (1,5 - 4,5 %), кальция (до 14 %), железа и других элементов, но сравнительно мало фосфора. При хранении мелассы могут иметь место потери сахара в результате деятельности микроорганизмов.

Кукурузная мука. Состав кукурузной муки может колебаться в значительных пределах в зависимости от сорта кукурузы, условия её выращивания и хранения. В среднем она содержит 67 - 70 % крахмала, около 10 % других углеводов (клетчатки, пентозанов, декстринов, растворимых углеводов), около 12 % белков (30 % глютелина и 45 - 50 % казеина). Влажность не должна превышать 15 %. Содержание золы примерно 0,9 %. Зола кукурузной муки содержит до 45 % фосфорного ангидрида, 30 % оксида калия и 15 % оксида магния. Кукурузная мука служит источником углерода в питательных средах для биосинтеза антибиотиков и ферментов. Она является самым дешевым продуктом из всех зерновых, и её цена зависит от степени измельчения.

Тема 1. Требования к качеству сырья

Мелассная барда является нестандартным продуктом, отходом спиртового производства. Содержание сухих веществ в натуральной барде 6 - 10 %. В составе барды кроме дрожжевой массы присутствуют аминокислоты, гликолевая, молочная, янтарная кислоты, соли кальция, калия, натрия, марганца, кобальта, меди и ряд витаминов группы В.

Ацетонобутиловая барда - нестандартный продукт, являющийся отходом микробиологического производства органических растворителей - ацетона и бутилового спирта. Для микробиологического синтеза используют барду после отделения шлама. В составе барды имеются углеводы, клетчатка, азотсодержащие и зольные вещества.

Тема 1. Требования к качеству сырья

Углеводородсодержащие сырье - это парафины нефти, метан (сырьё дешевое, и имеет постоянный состав, что очень хорошо для автоматизации процессов).

К Нетрадиционным источникам сырья относится метанол, этанол и т. д.

Эти три группы – основной компонент питательной среды то есть углеродсодержащий. Кроме этого в состав питательной среды должны входить:

- источники минерального питания (соли фосфора, азота, натрия, калия, магния, кальция и т. д. содержащие АТФ);
- микроэлементы (цинк, марганец, молибден, кобальт, сера и т. д.);
- комплексные обогатители сред. Они содержат биологически активные вещества (БАВ) – витамины, гормоны, ферменты, факторы роста.

Эти вещества вводят не в чистом виде, а в составе каких-то природных смесей, например: кукурузный экстракт, экстракт солодовых ростков, дрожжевой автолизат и т. д.

Питательный субстрат, или питательная среда, является сложной трехфазной системой, содержащей жидкие, твердые и газообразные компоненты. Существует тесное взаимодействие между культивируемым биообъектом и физико-химическими факторами среды. С одной стороны, эти факторы (рН, осмотическое давление и др.) контролируют рост клеток и биохимическую активность продуцентов. С другой стороны, химический состав и физико-химические свойства среды постоянно меняются в результате жизнедеятельности самих клеток. Эти обстоятельства заставляют рассматривать ферментируемый субстрат как продолжение внутренней среды клетки. Во время ферментации (процесса, в результате которого происходит брожение за счет воздействия собственных ферментов продукта) формируется совокупность субстрата и биообъекта.

Для повышения эффективности биотехнологического процесса часто используют различные добавки в питательную среду.

Источники минерального питания

Азот. В бактериальных клетках азота до 12 % в пересчете на сухую биомассу, в мицелиальных грибах — до 10%. Микроорганизмы могут использовать как органические, так и неорганические источники азота. Известно, что бактерии более требовательны к источникам азота, чем большинство микромицетов, актиномицетов и дрожжей. У клеток животных и растений особые требования к источникам азота. Продуктивность по биомассе в зависимости от источника азота не всегда совпадает с продуктивностью целевого метаболита и зависит также от условий культивирования. При выращивании биомасс в концентрации 30—40 г/л потребность в добавках азотсодержащих солей обычно не превышает 0,3—0,4 % от объема среды. В периодических режимах культивирования потребление азота заканчивается в первые 6—12 ч роста. При направленном биосинтезе азотсодержащих метаболитов потребность в азоте существенно возрастает.

Большинство дрожжей хорошо усваивает аммиачные соли -сульфат аммония, фосфат аммония, а также аммиак из водного раствора. Соли азотной кислоты не всегда хорошо усваиваются. Только некоторые виды дрожжей испытывают потребность в нитратах. Часто источником азота в состав сред включают мочевины. При направленном биосинтезе, например, целлюлолитических ферментов грибом *Peniophora gigantea* наивысшая биохимическая активность клеток наблюдается на средах с органическим азотом (аспарагин, пептон и др.).

Другие минеральные соли. Фосфор, как известно, входит в состав нуклеиновых кислот, фосфолипидов и других важных компонентов клетки. Иногда фосфор накапливается в ней в виде полифосфатов. Небольшая часть усвоенного фосфора существует в форме макроэргических соединений — АТФ.

Фосфор является важным компонентом клетки. Микроорганизмы нуждаются еще в 10 минеральных элементах, но в значительно меньших количествах. Повышенная потребность микроорганизмов в микроэлементах возникает, если целевой метаболит содержит микроэлемент. Так, при биосинтезе витамина В2 в состав питательной среды включают кобальт; молибден и бор стимулируют биосинтез тиамин в клетках клубеньковых бактерий; медь присутствует в ряде ферментов, переносящих электроны от субстрата к кислороду.

Комплексные обогатители сред

Микроорганизмы лучше растут в присутствии витаминов, аминокислот, цитокининов и других биологически активных веществ. С наступлением эры антибиотиков и в связи с широким применением микроорганизмов в промышленности остро встал вопрос об экономически оправданных, сбалансированных по составу питательных средах. Эффективной добавкой оказался кукурузный экстракт благодаря наличию в нем витаминов, аминокислот и минеральных элементов в легко ассимилируемых формах.

Тема 1. Условия переработки сырья

Для выращивания любой культуры необходимы :

1. Жизнеспособный посевной материал.
2. Источники энергии и углерода.
3. Питательные вещества для синтеза биомассы.
4. Отсутствие ингибиторов роста.
5. Соответствующие физико-химические свойства (температура, рН среды, наличие или отсутствие кислорода и т.п.).

Если эти требования выполнены, то скорость роста микроорганизмов будет пропорциональна росту биомассы.

Спасибо за внимание!

