



**ФЕДОРЕНКО
Борис Николаевич**

**доктор технических наук, профессор
Московского государственного
университета пищевых производств**

**ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ
ОБОРУДОВАНИЕ ОТРАСЛИ**
(биотехнологические производства)

**Лекция 2.
ОБОРУДОВАНИЕ
ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ
МИКРООРГАНИЗМОВ**
(биореакторы периодического действия)



СПЕЦИФИЧНОСТЬ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДСТВ

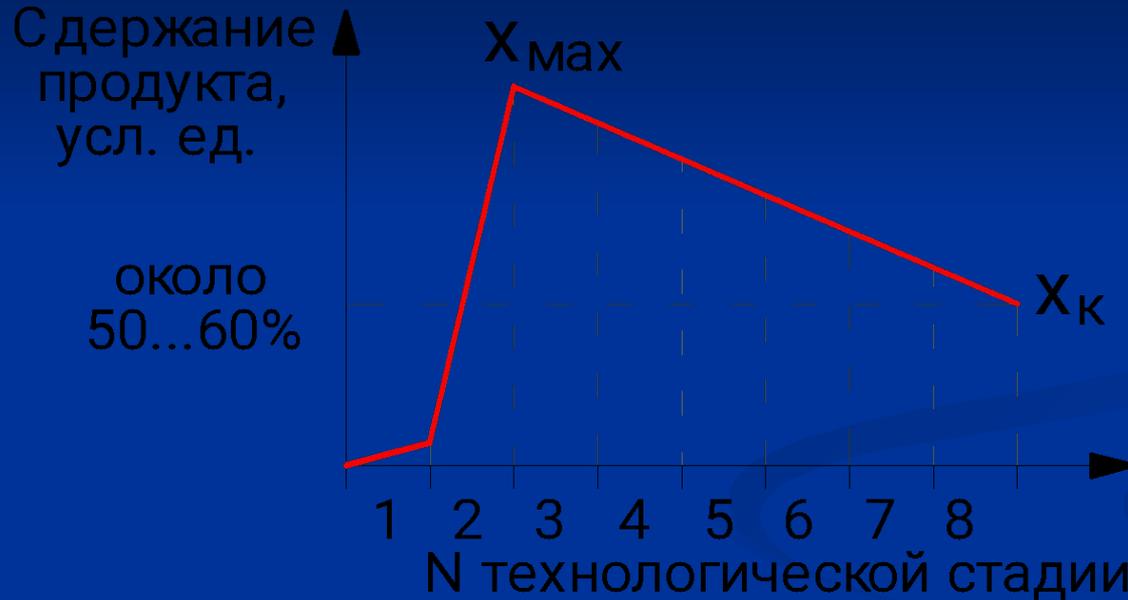
Специфика процессов культивирования состоит в том, что в них принимают участие живые клетки, субклеточные структуры или выделенные из клеток ферменты и их комплексы.

Это оказывает существенное влияние на процессы:

- **массопередачи**, обеспечивающие обмен веществ между различными фазами;
- **теплопередачи**, обеспечивающие перераспределение тепловой энергии между взаимодействующими фазами.



СПЕЦИФИЧНОСТЬ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДСТВ



Экстремальный характер накопления целевого продукта.



ВИДЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДСТВ

По общности специфических технологических признаков микробиологические производства можно разделить на две группы:

- **многотоннажные микробиологические производства**, направленные на получение значительных масс микроорганизмов (дрожжей) или больших объемов целевых продуктов – органических кислот (уксусной, молочной, лимонной), спиртов и т. п.
- **производства тонкого микробиологического синтеза**, направленные на получение бактериальных препаратов и соединений сложной органической структуры, бóльшая часть которых обладает биологически активными свойствами (ферментные препараты, антибиотики, аминокислоты, витамины, стимуляторы роста, гормональные препараты и т. п.

Специальные требования к биотехнике обусловлены спецификой микробиологических производств.



МНОГОТОННАЖНЫЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОИЗВОДСТВА

Особенности производств	Требования к оборудованию
<p>1. Культивирование ведут в условиях, в которых развитие посторонней микрофлоры затруднено, например:</p> <ul style="list-style-type: none">• в кислой среде при pH 4...5;• при повышенной температуре - в производстве молочной кислоты при 50°C;• при применении анаэробных культур;• при спиртовом или уксуснокислом брожении вырабатываются ингибиторы, подавляющие рост микроорганизмов-контаминантов).	<p>1. Не предъявляют жестких требований к обеспечению асептики, надежной герметизации оборудования, стерилизации сырья, материалов, воздуха, коммуникаций, аппаратуры и пр.</p>



МНОГОТОННАЖНЫЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОИЗВОДСТВА

(продолжение)

Особенности производств	Требования к оборудованию
<p>2. Продукты в основном несложны по химическому составу и имеют молекулярную массу до 100. (Поэтому микробиологический способ производства продуктов этой группы - этанола, бутанола, уксусной кислоты и др. сокращается, поскольку оказывается не конкурентоспособными с органическим синтезом. Но эта тенденция не характерна для дрожжевых производств.)</p>	<p>2. Конструктивное развитие микробиологического оборудования для производства указанных продуктов ограничивается отсутствием их технологической перспективы. Развитие оборудования для производства БВК в настоящее время осуществляют в основном в направлении повышения его экологической безопасности.</p>



МНОГОТОННАЖНЫЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОИЗВОДСТВА

(продолжение)

Особенности производств	Требования к оборудованию
3. Целевые продукты достаточно термолабильны.	3. Не требуется разработка конструкций, обеспечивающих особо «мягкие» тепловые условия выделения.
4. Выделение готовых продуктов относительно простое и немногостадийное, например, сепарация дрожжей, ректификация растворителей и т. п.	4. Состав применяемого технологического оборудования относительно невелик.



ПРОИЗВОДСТВА ТОНКОГО МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО СИНТЕЗА

Особенности производств	Требования к оборудованию
<p>1. Культивирование микроорганизмов осуществляют в условиях близких к оптимальным для большинства микроорганизмов – контаминантов (рН 6,2...7,2; температуре 25...35°С) на средах, содержащих углеводы, растительный белок, фосфорные и азотистые соли. Поэтому посторонняя микрофлора может подавить развитие культуры или резко снизить выход продуктов метаболизма.</p>	<p>1. Повышенные требования к защите технологических сред на стадии культивирования, а иногда и на стадиях выделения от посторонней микрофлоры, что влечет за собой применение оборудования для тонкой и бактериальной очистки воздуха, надежной стерилизации питательных сред и добавок. В основном технологическом оборудовании обеспечивают надежную герметизацию, тепловую стерилизацию, асептический отбор проб и т. п.</p>



ПРОИЗВОДСТВА ТОНКОГО МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО СИНТЕЗА

(продолжение)

Особенности производств	Требования к оборудованию
<p>2. Большинство продуктов тонкого микробиологического синтеза очень чувствительны к повышенным температурам, рН, фазовым переходам и пр., а в нативной форме весьма нестабильны и быстро теряют свои полезные качества.</p>	<p>2. Технологическое оборудование должно обеспечивать «мягкие» условия выделения, очистки и концентрирования целевых продуктов, а также иметь достаточно высокую производительность для ускоренной переработки культуральных сред и других промежуточных продуктов.</p>
<p>3. Выделение и очистка целевых продуктов более сложна и многостадийна.</p>	<p>3. Состав технологического оборудования этой группы производств достаточно широк и разнообразен.</p>



ПРОИЗВОДСТВА ТОНКОГО МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО СИНТЕЗА

(продолжение)

Особенности производств	Требования к оборудованию
<p>4. Продукты тонкого микробиологического синтеза большей частью выпускают в сухом виде расфасованными в герметичную тару относительно небольшой вместимости.</p>	<p>4. В состав производства входит оборудование для проведения финишных операций.</p>



ОБЩИЕ ОСОБЕННОСТИ ОБОРУДОВАНИЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДСТВ

■ **Очень большая вместимость биореакторов.**

Это обусловлено следующими обстоятельствами:

Концентрации целевых продуктов в культуральных жидкостях очень мала, как правило, несколько килограммов, а иногда граммов в 1 м^3 , например:

- витамина B_{12} содержится $5...15 \text{ г/м}^3$;
- содержание биомассы при производстве бактериальных препаратов обычно не превышает $1...2\%$;
- концентрацию некоторых органических кислот (лимонной, глутаминовой), ферментов, лизина удается довести до десятков килограммов в 1 м^3 .

Поэтому для получения достаточного количества целевого продукта необходимо переработать очень большие объемы культуральных сред.



ОБЩИЕ ОСОБЕННОСТИ ОБОРУДОВАНИЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДСТВ

■ **Очень большие габариты оборудования.**

Большие габариты оборудования обусловлены не только повышенной вместимостью, но и конструктивными параметрами, обеспечивающими:

- «мягкие» условия обработки продуктов биосинтеза (например, в распылительных сушилках для биологических объектов. В частности, при одинаковой производительности распылительная сушилка на основе того же принципа действия, но предназначенная для химических производств, менее громоздка);
- повышенную производительность оборудования для быстрой переработки лабильных биологических продуктов.



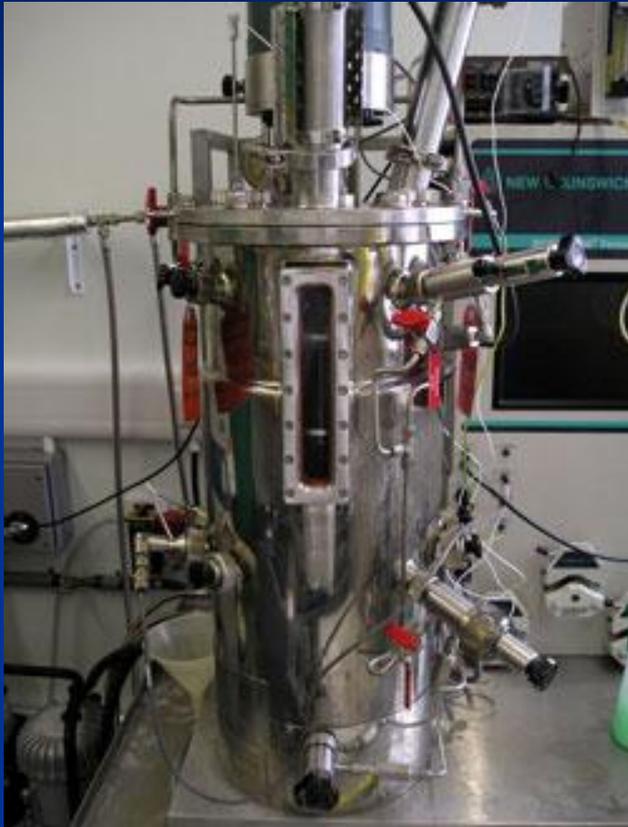
ОБЩИЕ ОСОБЕННОСТИ ОБОРУДОВАНИЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДСТВ

- **Применение самых современных систем перемешивания.**

Это обусловлено тем, что культуральные жидкости представляют собой сложные объекты перемешивания, а при культивировании микроскопических грибов и актиномицетов они как-бы «армированы», что составляет дополнительную трудность при перемешивании. Поэтому до определенного критического значения удельной вводимой мощности эффективного перемешивания культуральной жидкости не происходит.



КУЛЬТИВИРОВАНИЕ – ОПРЕДЕЛЯЮЩАЯ СТАДИЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДСТВА



- **Культивирование микроорганизмов** - наиболее продолжительная и тонкая стадия биотехнологического производства, в наибольшей степени определяющая его количественные и качественные показатели.
- **Культивирование микроорганизмов** - основано на взаимодействии трех фаз: твердой, жидкой и газообразной.
- **Виды культивирования микроорганизмов:**
 - жидкофазное (поверхностное, глубинное);
 - твердофазное (поверхностное).



ОСОБЕННОСТИ ТВЕРДОФАЗНОГО И ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ (на примере производства ферментных препаратов)

ПРЕИМУЩЕСТВА СПОСОБОВ:

Твердофазное культивирование	Глубинное культивирование
Скорость биосинтеза в несколько раз (в 5...8 раз) выше.	Меньшая потребность в производственной площади.
Общая продолжительность культивирования для получения одной и той же активности в 2...3 раза короче.	Высокая степень механизации (исключается тяжелый ручной труд).
Меньше затраты электроэнергии (не требуется интенсивное перемешивание и меньше затраты энергии на сушку).	Обеспечивается стерильность процесса.
Существенно меньшее образование сточных вод.	Простота механизации процесса и стерилизации сред и оборудования.
Характер субстрата облегчает выделение и очистку продукта.	Улучшается гигиена труда.



ОСОБЕННОСТИ ТВЕРДОФАЗНОГО И ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

(на примере производства ферментных препаратов)

ПРЕИМУЩЕСТВА СПОСОБОВ (продолжение):

Твердофазное культивирование	Глубинное культивирование
Малое содержание влаги в субстрате препятствует инфицированию культуры.	Проще осуществить непрерывный способ культивирования.
	Более рациональное использование питательных веществ сред, и, следовательно, сокращение отходов производства.
	Получение целевого продукта с меньшим содержанием побочных примесей и с большей удельной активностью.
	Возможность интенсификации процесса за счет непрерывного отвода метаболитов через селективную мембрану.



ОСОБЕННОСТИ ТВЕРДОФАЗНОГО И ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

(на примере производства ферментных препаратов)

НЕДОСТАТКИ СПОСОБОВ:

Твердофазное культивирование	Глубинное культивирование
Более низкий уровень промышленного технологического оборудования.	Более высокие требования к технологическим стадиям.
Сложность тепло- и массообмена.	Получение более разбавленных растворов целевого продукта (обычно 1...3%), что повышает стоимость стадии концентрирования.
Более тяжелые и вредные условия труда.	
Нестерильность процессов.	
Пригодность лишь для аэробных культур	

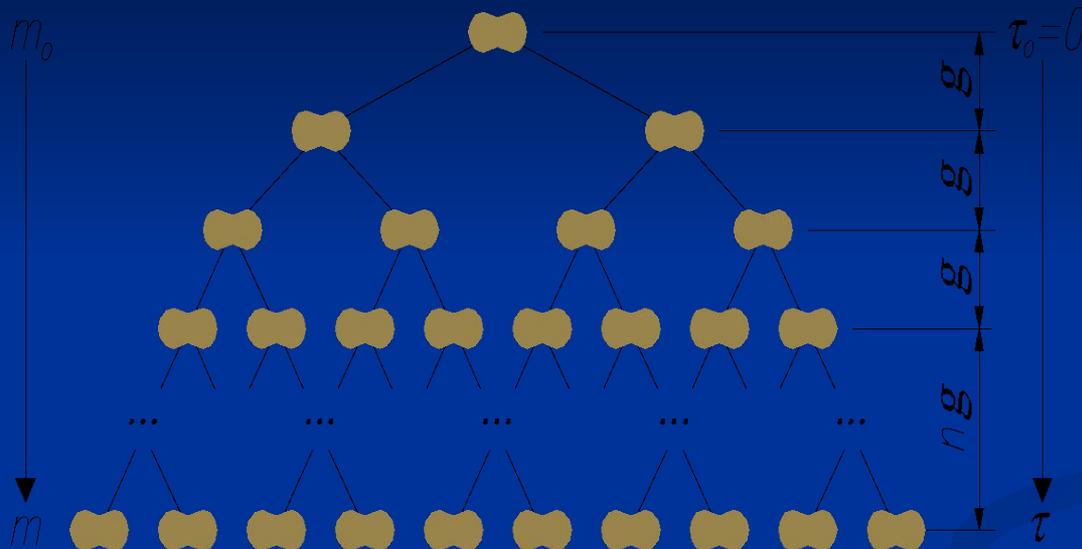


ОСНОВНЫЕ КИНЕТИЧЕСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

- В основу расчетов биореакторов положена **КИНЕТИКА** – учение о скорости протекания процессов.
- **МАКРОКИНЕТИКА** – описывает развитие микроорганизмов в реальных условиях в большом объеме, в котором развиваются миллиарды микроорганизмов при массовом движении микрочастиц – микроорганизмов, частиц субстрата, капель, струй, пузырей и пр.
- **МИКРОКИНЕТИКА** – описывает элементарные процессы, протекающие на молекулярном уровне независимо друг от друга, с учетом предположения об упрощенном механизме их существования. К таким процессам относят: молекулярную диффузию, теплопроводность, обмен веществ биообъекта – усвоение им продуктов внешней среды, выделение продуктов метаболизма и пр.



РАЗМНОЖЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ В БЛАГОПРИЯТНЫХ УСЛОВИЯХ

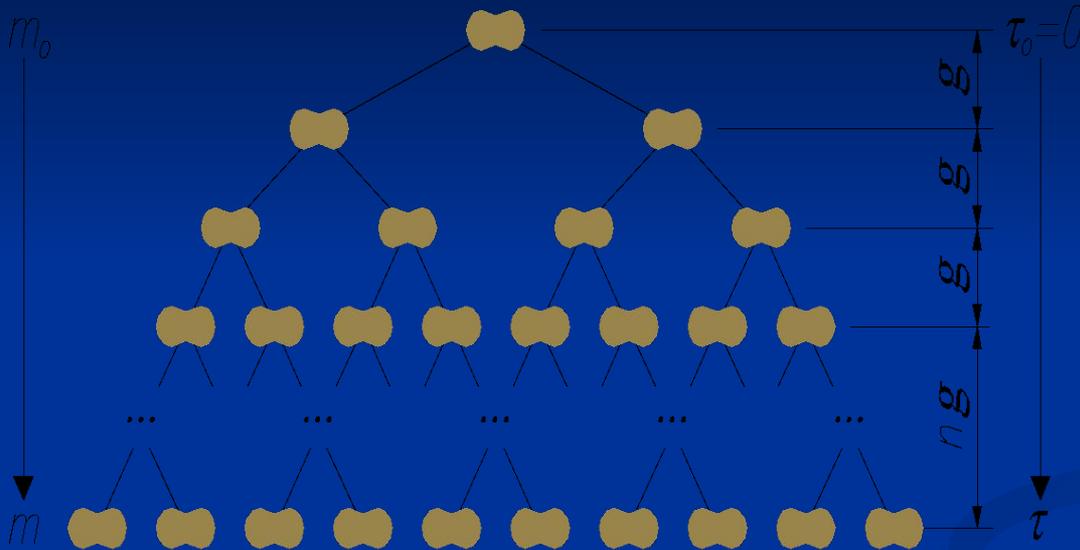


ПРИНЯТЫЕ ДОПУЩЕНИЯ:

- Параметры внешней среды неизменны;
- Отсутствие дефицита питательных веществ;
- Все клетки делятся синхронно.



СКОРОСТЬ РОСТА МИКРООРГАНИЗМОВ



$$\Delta m = \mu m \Delta \tau$$



$$dm = \mu m d\tau$$



$$dm/d\tau = \mu m$$



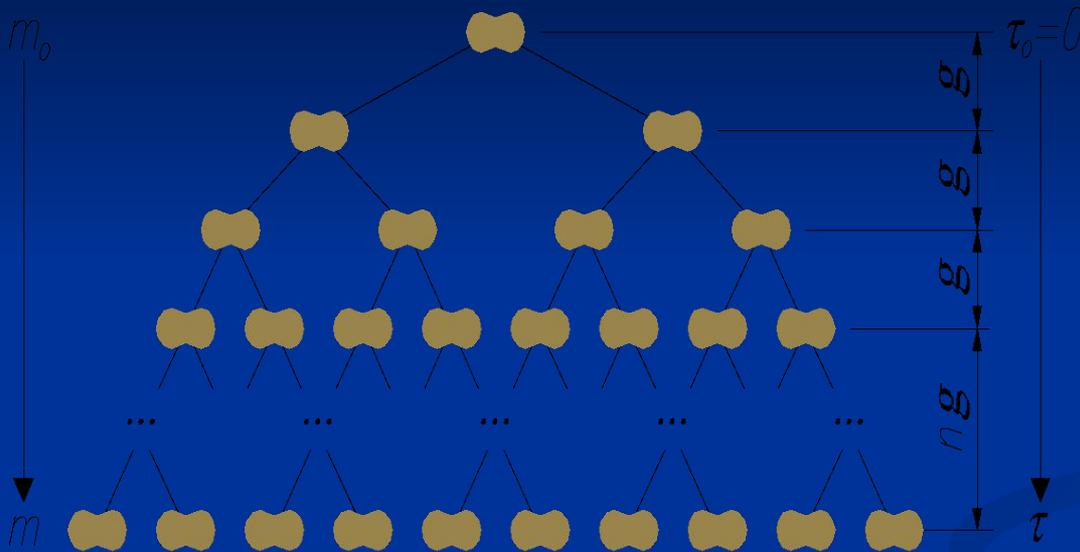
$$\mu = dm/(d\tau m)$$

$dm/d\tau$ - общая (валовая) скорость роста микроорганизмов;

μ - удельная скорость роста микроорганизмов – комплексный показатель, характеризующий жизнедеятельность микроорганизмов.



ЭКСПОНЕНЦИАЛЬНАЯ ЗАКОНОМЕРНОСТЬ РОСТА МИКРООРГАНИЗМОВ



$$dm = \mu m dt$$



$$dm/m = \mu dt$$



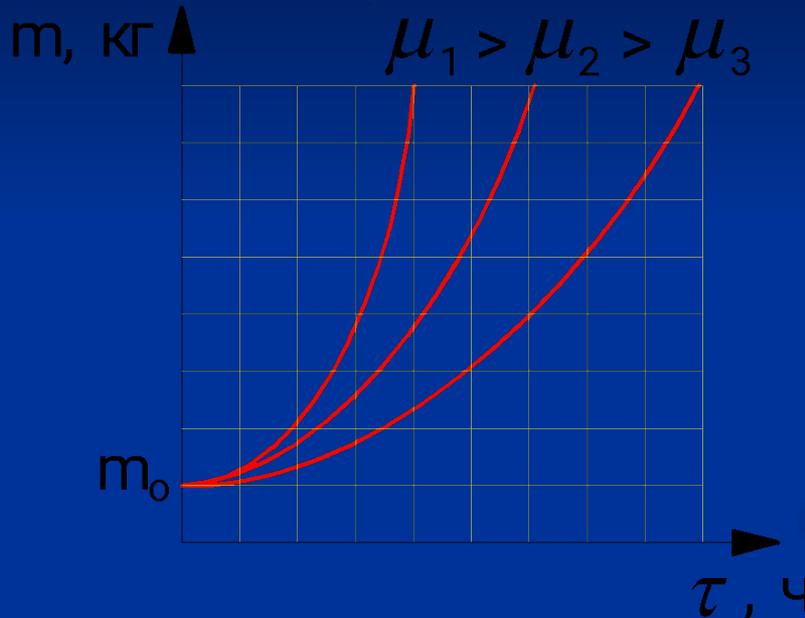
$$\int_{m_0}^m \frac{dm}{m} = \int_0^{\tau} \mu dt$$



$$m = m_0 e^{\mu \tau}$$



ЭКСПОНЕНЦИАЛЬНАЯ ЗАКОНОМЕРНОСТЬ РОСТА МИКРООРГАНИЗМОВ



$$m = m_0 e^{\mu\tau}$$

$$x = x_0 e^{\mu\tau}$$

$$N = N_0 e^{\mu\tau}$$

Рост биомассы, концентрации микроорганизмов и количества клеток описывают экспоненциальной зависимостью.



ДЕМОНСТРАЦИЯ ЭКСПОНЕНЦИАЛЬНОЙ ЗАВИСИМОСТИ

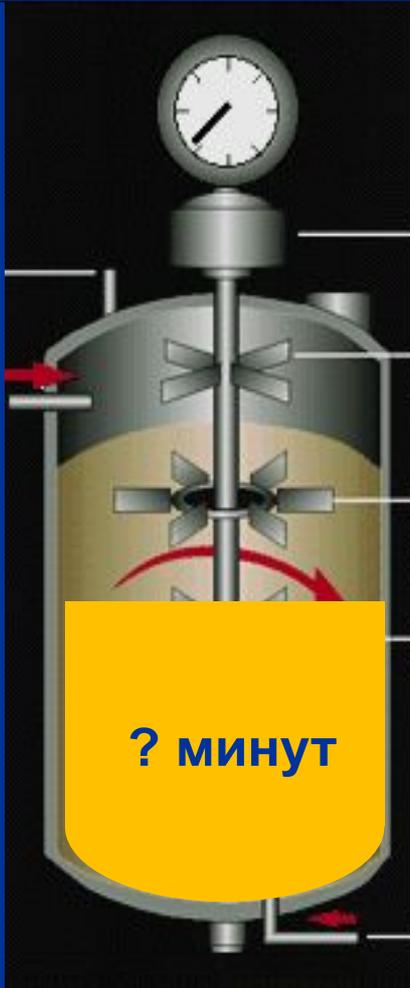


Экспоненциальная зависимость обладает некоторыми неочевидными свойствами, одно из которых можно продемонстрировать простой гипотетической задачей:

Допустим: клетка не испытывает влияния лимитирующих факторов, делится раз в минуту и может заполнить все внутреннее пространство биореактора ровно за час.



ДЕМОНСТРАЦИЯ ЭКСПОНЕНЦИАЛЬНОЙ ЗАВИСИМОСТИ



Экспоненциальная зависимость обладает некоторыми неочевидными свойствами, одно из которых можно продемонстрировать простой гипотетической задачей:

Допустим: клетка не испытывает влияния лимитирующих факторов, делится раз в минуту и может заполнить все внутреннее пространство биореактора ровно за час.

За какое время клеточная биомасса заполнит половину биореактора?



ЕЩЕ ОДИН ПРИМЕР ГЕОМЕТРИЧЕСКОЙ ПРОГРЕССИИ



Существует древняя легенда, которая приписывает создание шахмат некоему индийскому брамину.

За свое изобретение он попросил у раджи, который был в восторге от новой игры, незначительную, на первый взгляд, награду: столько пшеничных зерен, сколько покажет шахматная доска, если на первую клетку положить одно зерно, а потом количество зерен удваивать.

Оказалось зерен потребуется:

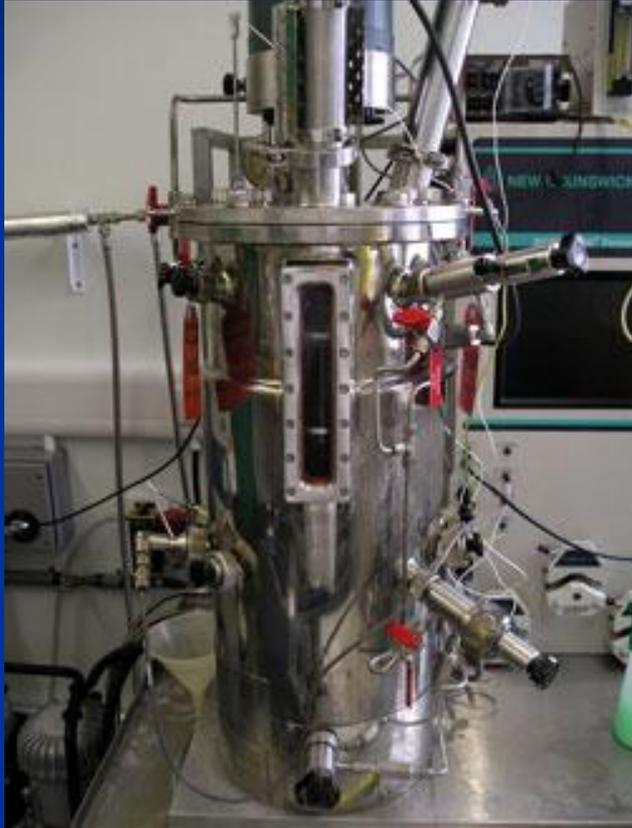
18 446 744 073 709 551 615

(18 квинтильонов 446 квадрильонов 744 триллиона 73 биллиона 709 миллионов 551 тысяча 615).

Такого количества пшеницы нет на всей планете!



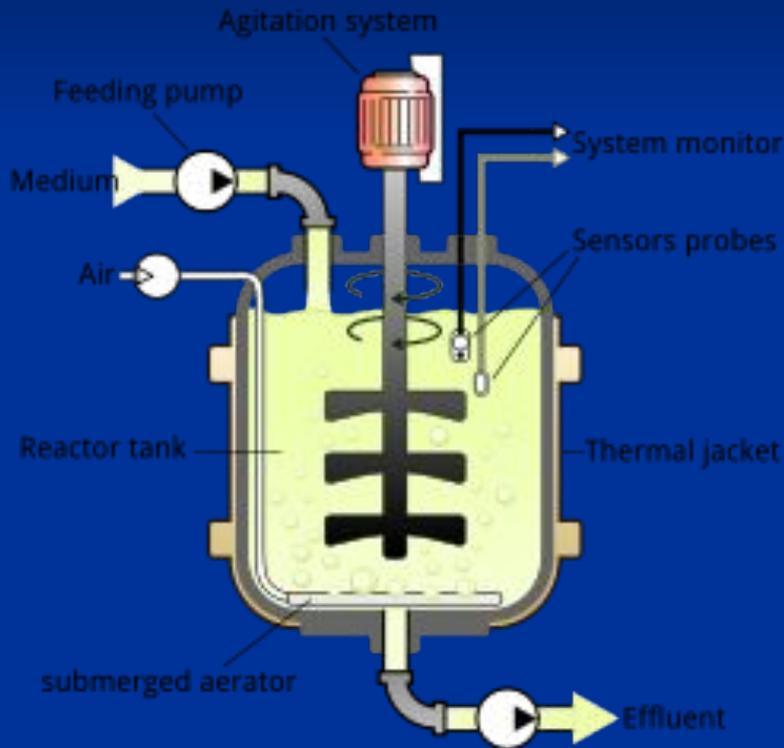
ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ О БИОРЕАКТОРАХ



- **Биореакторы** - сложные технические устройства, обеспечивающие оптимальные условия для развития биологических объектов, в результате которого осуществляется биосинтез полезных соединений.
- В биореакторе происходит накопление биомассы и продуктов метаболизма. В одних микробиологических производствах целевым продуктом является биомасса (кормовой белок, бактериальные удобрения и т. п.), а в других - прочие продукты биосинтеза, в том числе метаболиты (ферменты, аминокислоты, антибиотики, витамины и т. п.). При этом синтезируемые продукты могут накапливаться как внутри клеток, так и выделяться ими в культурную среду.



КЛАССИФИКАЦИЯ БИОРЕАКТОРОВ



- по направленности биологических процессов;
- по способу культивирования;
- по структуре рабочего цикла;
- по условиям асептики;
- по условиям аэрации;
- по способу ввода энергии;
- по организации перемешивания и аэрации и т. д.

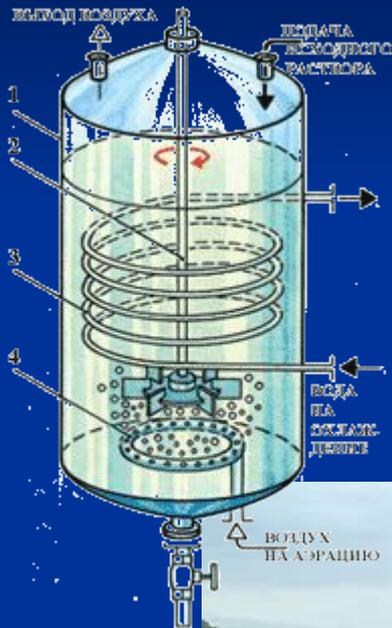


БИОРЕАКТОРЫ ПЕРИОДИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ

Биореакторы периодического действия характеризуются:

- единством места проведения всех стадий технологической операции;
- одновременностью этих стадий;
- различием параметров на этих стадиях.

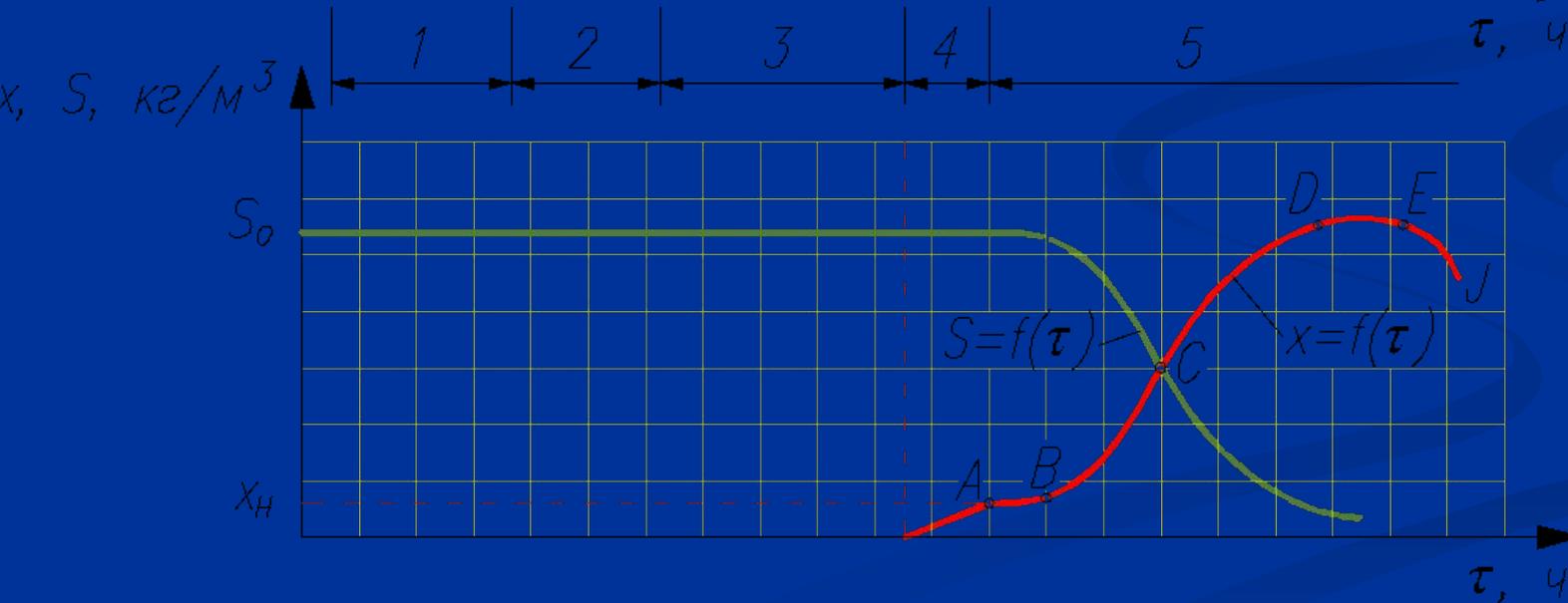
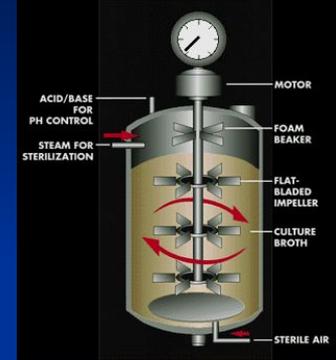
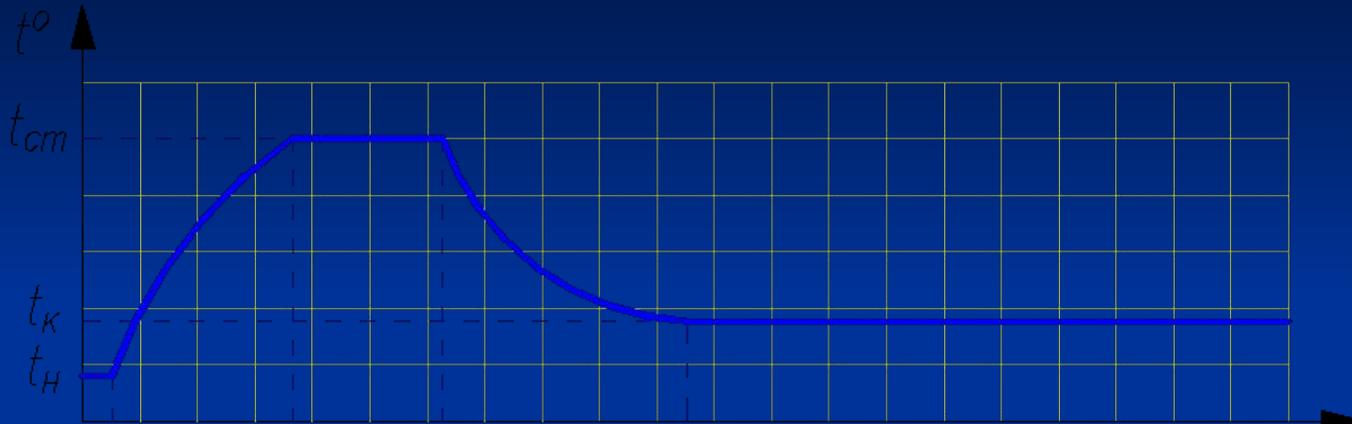
Исходный материал загружают в биореактор, последовательно подвергают каким-либо воздействиям в течение определенного промежутка времени, а затем выгружают готовый или промежуточный продукт.



Работу биореактора в периодическом режиме можно уподобить естественному ходу сельскохозяйственных работ, когда все стадии процесса (например, вспашка, сев, прополка и т.д.) протекают на одном поле, в определенной последовательности, в разные периоды времени и при разных климатических условиях.

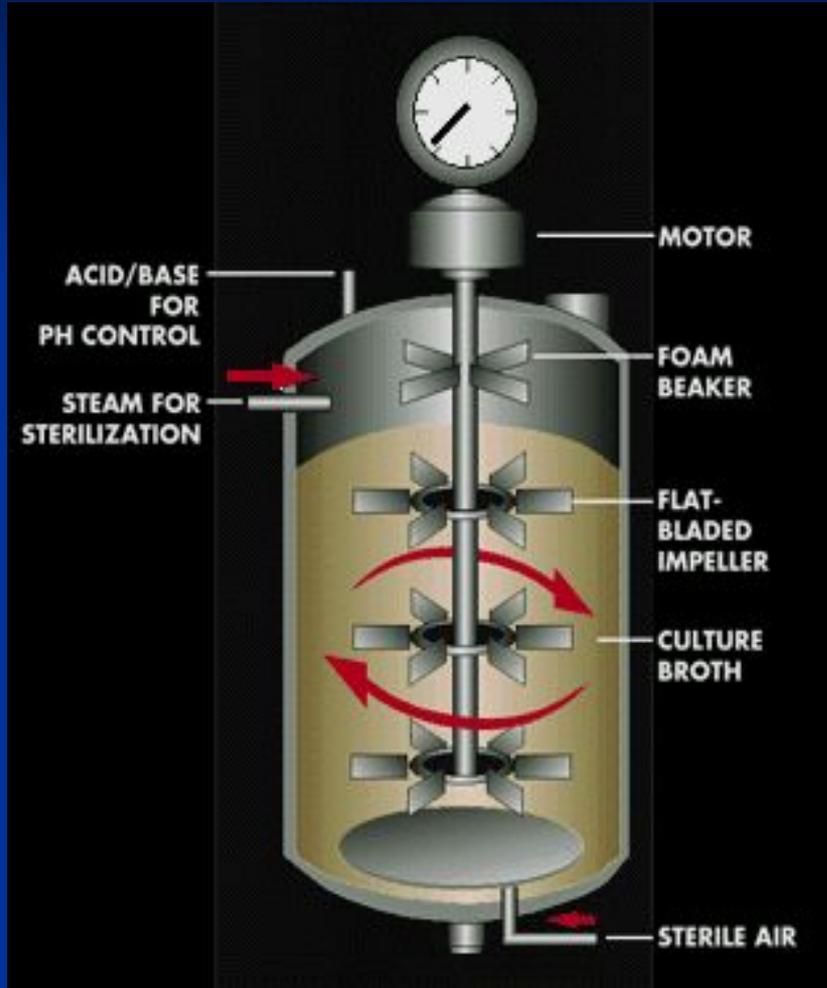


ОСНОВНЫЕ СТАДИИ ПЕРИОДИЧЕСКОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

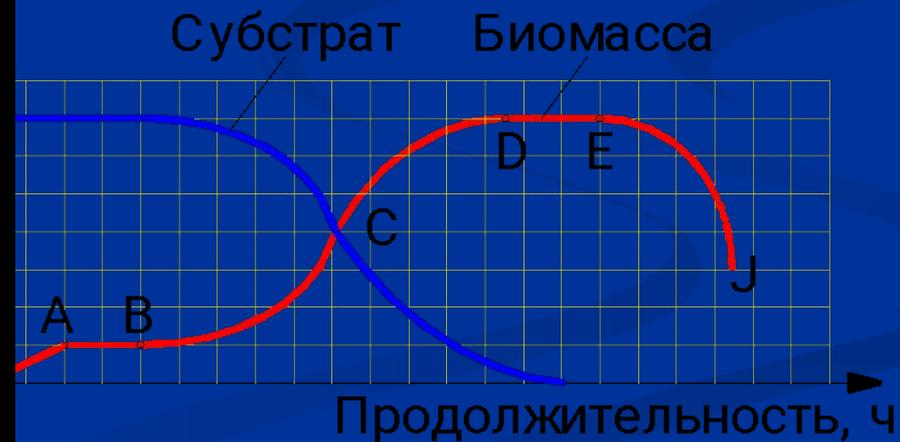




ТИПИЧНЫЙ ХАРАКТЕР ИЗМЕНЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ВЕЩЕСТВ ПРИ ПЕРИОДИЧЕСКОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ МИКРООРГАНИЗМОВ



AB – лаг фаза;
BC – фаза экспоненциального роста;
CD – фаза замедленного роста;
DE – стационарная фаза;
EJ – фаза отмирания (автолиз).





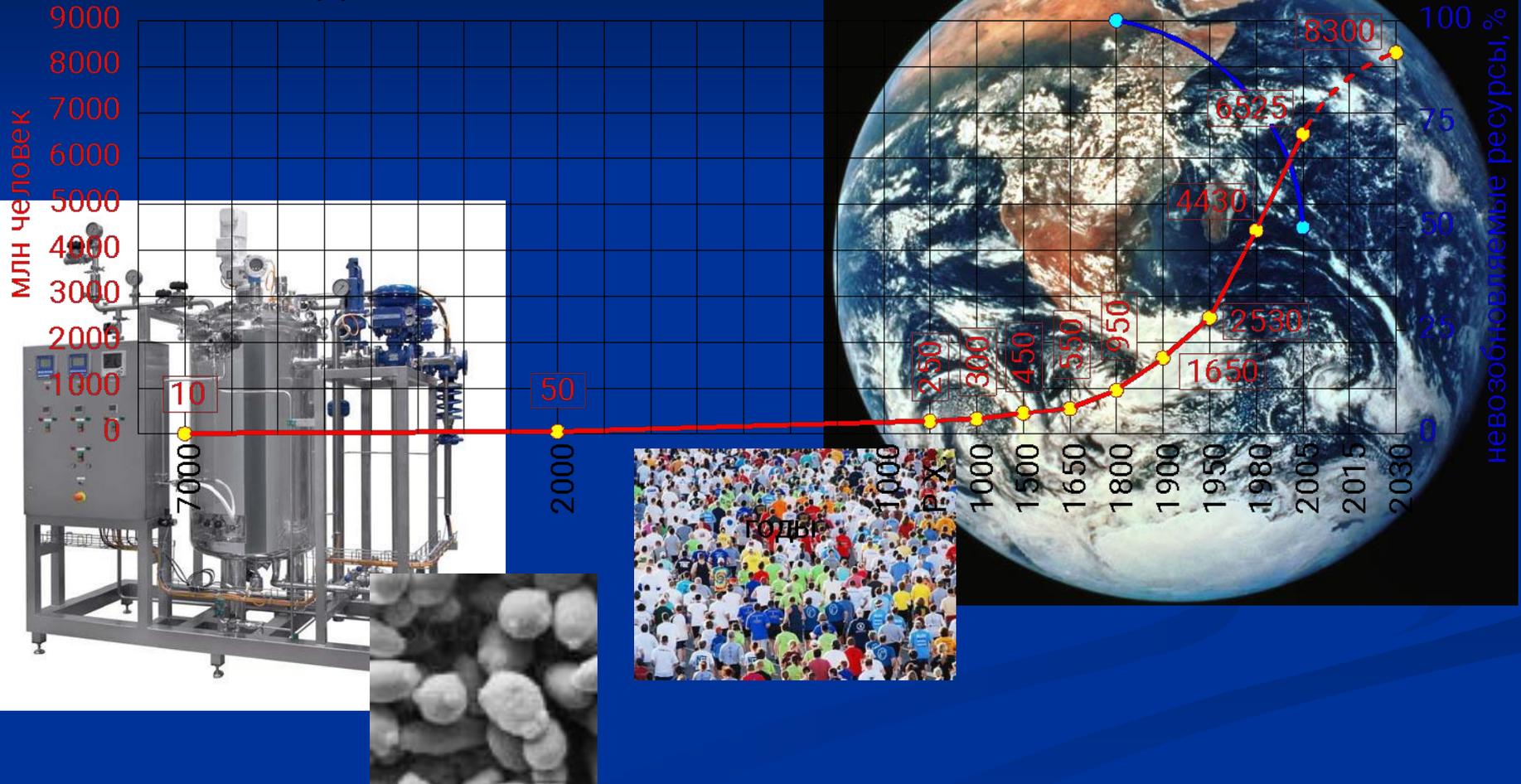
ПЕРИОДИЧЕСКОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ

- В экспоненциальную фазу обычно синтезируются, так называемые, первичные метаболиты (витамины, многие ферменты);
- В стационарную фазу обычно синтезируются, так называемы, вторичные метаболиты (антибиотики, красящие вещества и т.п.);
- Современные периодические процессы основаны на принципе дифференцированных режимов культивирования, в соответствии с которым для каждой фазы процесса подбирают оптимальные условия аэрации, перемешивания, pH и температуры.



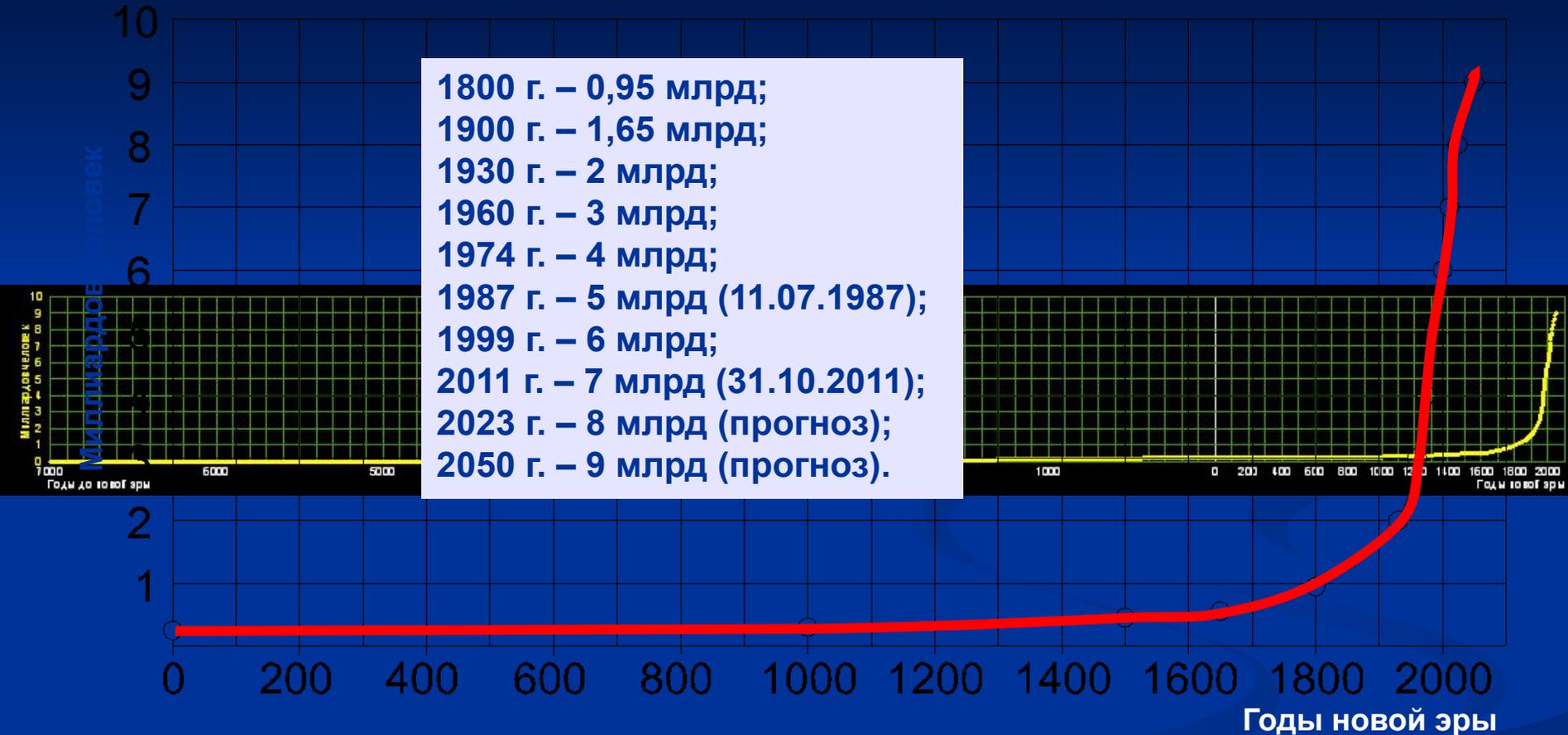
МИКРООРГАНИЗМЫ «ПРЕДСКАЗЫВАЮТ» БУДУЩЕЕ ЧЕЛОВЕЧЕСТВА

ДИНАМИКА ЧИСЛЕННОСТИ НАСЕЛЕНИЯ ЗЕМЛИ





ДИНАМИКА НАРОДОНАСЕЛЕНИЯ ЗЕМЛИ



К 2030 году численность населения достигнет 8,3 млрд. человек, потребность в энергии подскочит на 50%, а в пресной воде - на 30%.



КРИЗИС ЧЕЛОВЕЧЕСТВА ПО МАЛЬТУСУ



Томас Мальтус
(1766-1834)

"Опыт о законе народонаселения и его влиянии на будущее улучшение общества" (1798).

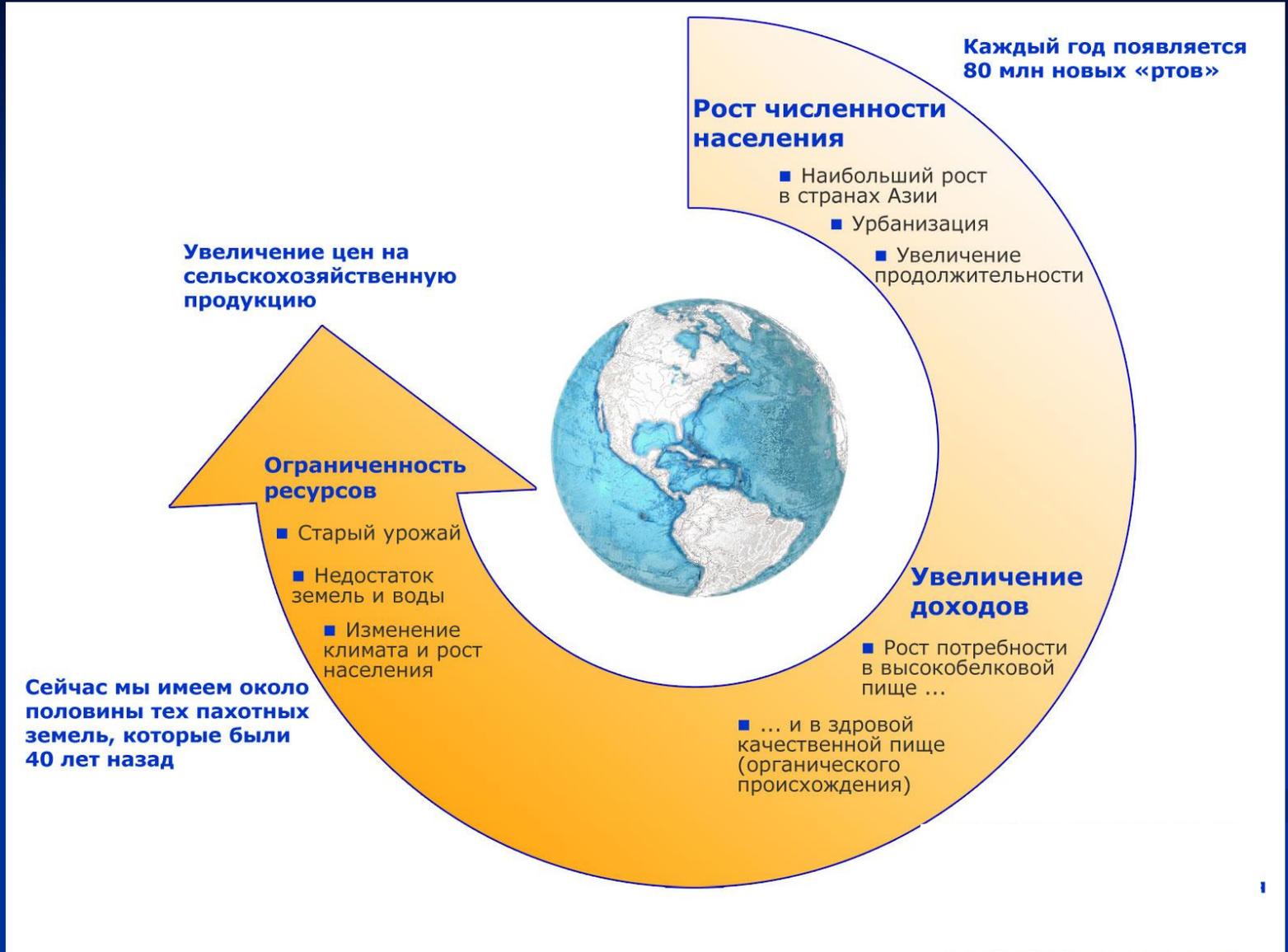
Справка:
1804 г. – 1,0 млрд

На надгробном камне Т. Мальтуса написано: **"Его произведения будут вечным памятником глубине и верности его понимания"**.



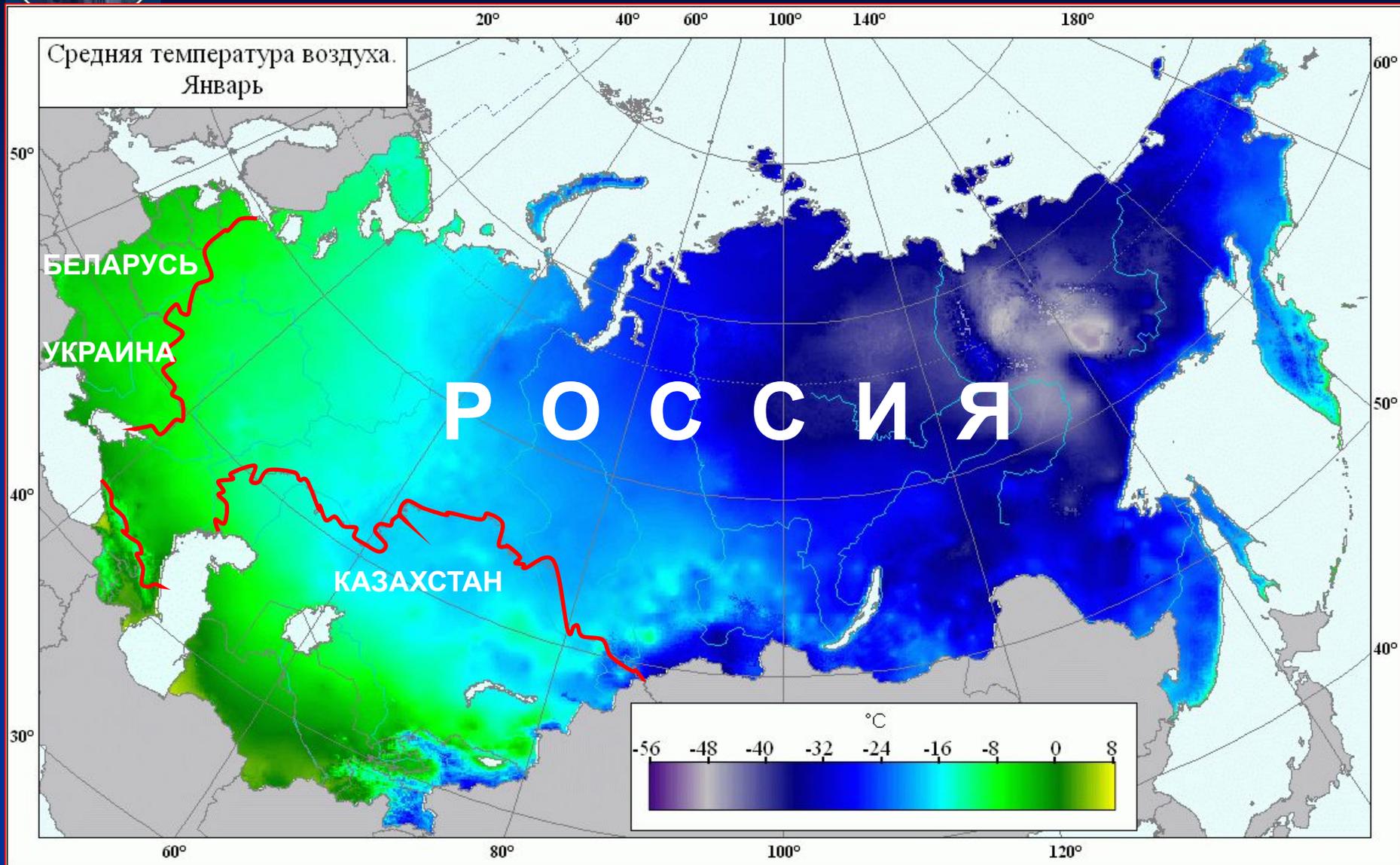


ПЕРСПЕКТИВЫ НАРОДОНАСЕЛЕНИЯ ПЛАНЕТЫ



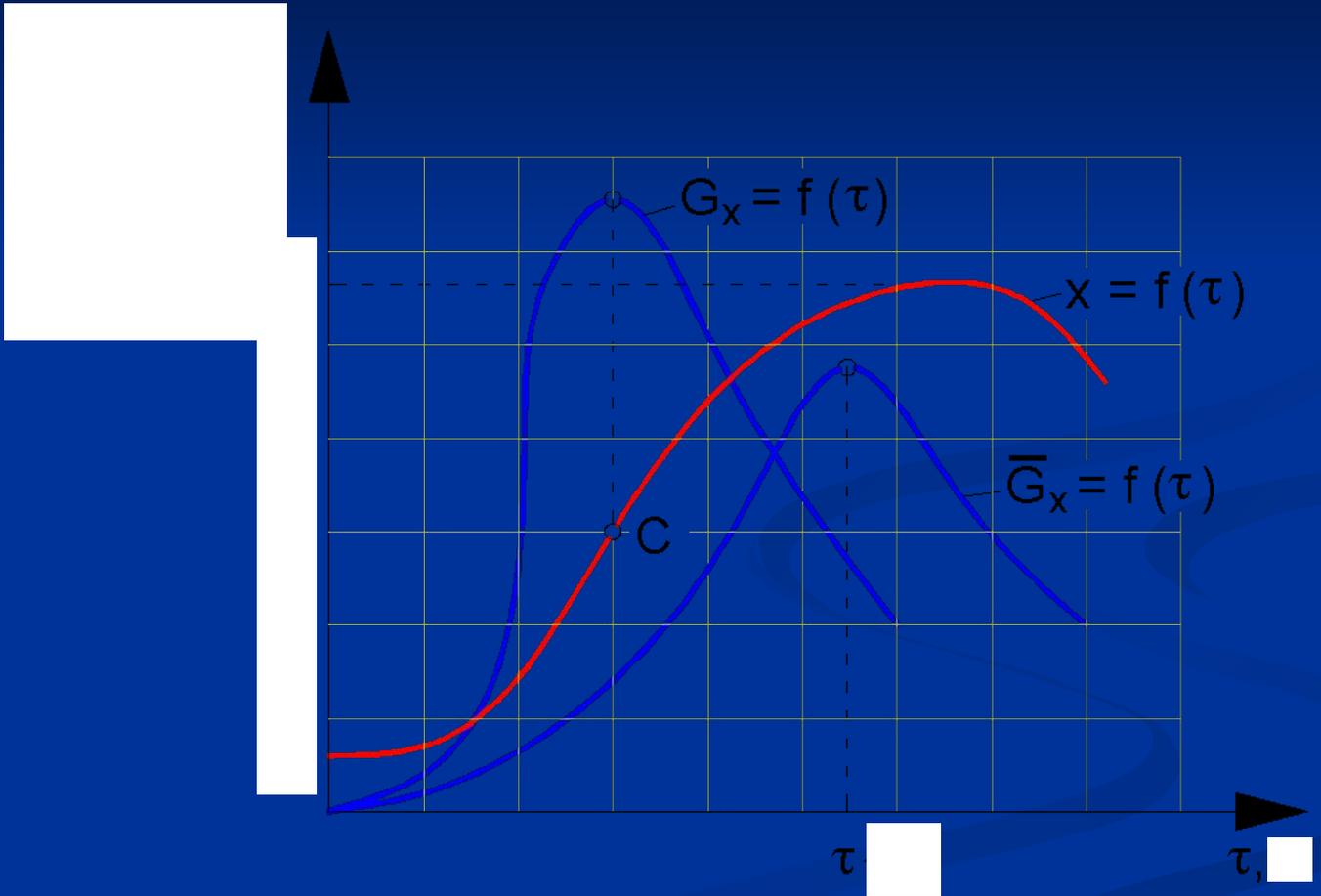


2/3 ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ – ВЕЧНАЯ МЕРЗЛОТА





ПРОДУКТИВНОСТЬ БИОРЕАКТОРА ПЕРИОДИЧЕСКОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ





РАЗНОВИДНОСТИ ПЕРИОДИЧЕСКОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

- **Периодическое культивирование с подпиткой**, при котором в биореактор добавляют питательную среду через определенные промежутки времени (при этом продолжительность культивирования возрастает, но требуется меньшее количество посевного материала и происходит более полное использование всех имеющихся в среде питательных веществ).
- **Отъемно-доливочное культивирование**, при котором часть культуральной жидкости из биореактора периодически изымают при последующем добавлении эквивалентного количества питательной среды (это способствует регулярному омолаживанию культуры и задержке ее перехода к фазе отмирания).
- **Культивирование в мембранных биореакторах.**





НЕДОСТАТКИ ПЕРИОДИЧЕСКОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ



- **цикличность процесса;**
- **постоянное изменение условий культивирования;**
- **трудность контроля и регулирования параметров процесса.**



ФЕДОРЕНКО

Борис Николаевич

доктор технических наук, профессор

Кафедра “Эксплуатационное
оборудование АПК”

Московского государственного
университета пищевых производств

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!