



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Магнитогорский государственный технический университет им. Г.И. Носова»

**М.А. Зяблицева**

## **БИОТЕХНОЛОГИЯ С ОСНОВАМИ БИОХИМИИ**

*Утверждено Редакционно-издательским советом университета  
в качестве учебного пособия*

Магнитогорск  
2023

УДК 60:577.1(075.8)  
ББК 30.16:28.072я73  
З-991

**Рецензенты:**

директор ООО «Спарта-Экспорт»  
**М.В. Варганов**

кандидат химических наук,  
доцент кафедры металлургии и химических технологий  
ФГБОУ ВО «Магнитогорский государственный  
технический университет им. Г.И. Носова»  
**С.А. Крылова**

**Зяблицева М.А.**

**Биотехнология с основами биохимии** [Электронный ресурс] : учебное пособие / Мария Анатольевна Зяблицева; ФГБОУ ВО «Магнитогорский государственный технический университет им. Г.И. Носова». – Электрон. текстовые дан. (1,20 Мб). – Магнитогорск: ФГБОУ ВО «МГТУ», 2023. – 1CD-ROM. – Систем. требования: IBM PC, любой, более 1 GHz ; 512 Мб RAM; 10 Мб HDD; MS Windows XP и выше; Adobe Reader 8.0 и выше ; CD/DVD-ROM дисковод; мышь. – Загл. с титул. экрана.

ISBN 978-5-9967-2617-2

Учебное пособие составлено в соответствии с учебными программами дисциплин «Основы биотехнологии», «Биохимия». Знакомит обучающихся с современными научными представлениями о биотехнологии и ее прикладном значении для человека. В пособии подробно рассмотрены основные биообъекты биотехнологии и методы работы с ними, пути развития и достижения использования биотехнологии в различных отраслях промышленности, основные принципы организации биотехнологического производства.

Учебное пособие предназначено для обучающихся по направлениям подготовки 19.03.02 Продукты питания из растительного сырья, 44.03.05 Педагогическое образование (с двумя профилями подготовки) (профиль - Химия и биология).

УДК 60:577.1(075.8)  
ББК 30.16:28.072я73

ISBN 978-5-9967-2617-2

© Зяблицева М.А., 2023  
© ФГБОУ ВО «Магнитогорский государственный  
технический университет им. Г.И. Носова», 2023

## Содержание

ВВЕДЕНИЕ .....	4
1. ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ И НАПРАВЛЕНИЯ БИОТЕХНОЛОГИИ .....	5
2. ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ .....	15
2.1. Строение прокариотической клетки .....	15
2.2. Стадии и кинетика роста микроорганизмов.....	17
2.3. Продукты микробного брожения и метаболизма .....	18
2.4. Способы культивирования микроорганизмов.....	18
2.5. Культивирование животных и растительных клеток.....	21
3. ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ: РОСТ В ИСКУССТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ.....	23
3.1. Питательные среды.....	23
3.2. Оборудование.....	27
3.3. Объекты биотехнологии.....	30
4. ОБЩАЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ СХЕМА ПРОИЗВОДСТВА ПРОДУКТОВ МИКРОБНОГО СИНТЕЗА.....	32
5. ПОЛУЧЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ВЕЩЕСТВ С ПОМОЩЬЮ МИКРООРГАНИЗМОВ .....	36
5.1 Получение пищевых кислот.....	36
5.2 Аминокислоты.....	41
5.2.1 Общие сведения об аминокислотах .....	41
5.2.2 Получение аминокислот.....	43
5.3. Белки .....	45
5.3.1. Общие сведения о белках.....	45
5.3.2. Получение белков .....	48
5.4. Липиды.....	49
5.4.1. Общие сведения о липидах .....	49
5.4.2. Получение липидов.....	50
5.5. Витамины.....	51
5.5.1 Общие сведения о витаминах .....	51
5.5.2 Получение витаминов.....	52
5.6. Получение этилового спирта .....	54
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	56
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК .....	57
ПРИЛОЖЕНИЕ А Классификация аминокислот .....	59
ПРИЛОЖЕНИЕ Б Тестовые задания .....	60

## ВВЕДЕНИЕ

Человечество на протяжении своего развития не раз сталкивалось с проблемами, затрагивающими интересы многих стран и народов. Однако в XXI веке проблемы приобрели глобальное значение.

В конце XX века был достигнут планетарный масштаб производственно-хозяйственной деятельности человека, что послужило причиной ряда глобальных изменений. Деятельность человека привела к исчерпанию невозобновляемых природных ресурсов, дефициту продовольствия, загрязнению окружающей среды и как следствие к ухудшению состояния здоровья людей и исчезновению отдельных видов растений и животных.

Глобальные проблемы имеют политический, социальный, экономический характер и теснейшим образом связаны между собой. Так, численность населения нашей планеты составляет 7,93 миллиарда человек и как ожидается, к 2050 году она увеличится до 9,7 миллиардов.

Прирост населения по прогнозам будет осуществляться в основном за счет развивающихся стран. Возникает продовольственная проблема. Опережающий рост численности населения по сравнению с ростом производства продуктов питания приведет к увеличению численности голодающих, вследствие, чего возрастает антропогенная нагрузка на сельскохозяйственные ландшафты.

Человечество ищет пути решения данных проблем. Необходимы новые технологии и оригинальные подходы, призванные ликвидировать нехватку продовольствия, энергии, минеральных ресурсов, необходимо улучшить состояние здравоохранения и охраны окружающей среды.

Все больше возрастает роль новой, наукоемкой, бурно развивающейся отрасли народного хозяйства — биотехнологии.

Биотехнология – это наука, сочетающая достижения биохимии, генетики, микробиологии, цитологии, молекулярной биологии, биофизики. Она позволяет использовать потенциал живых организмов в интересах хозяйственной деятельности человека. Объектами изучения биотехнологии являются гены, клетки, ткани, микроорганизмы, растения и животные.

Результатами практического применения биотехнологических методов стали антибиотики, ферменты, кормовые белки, биоудобрения, безвирусные растения, функциональные продукты питания, новые сорта растений и породы животных, инновационные технологии переработки сырья, промышленных и сельскохозяйственных отходов, способы очистки сточных вод и газовоздушных выбросов.

Человечество возлагает большие надежды на биотехнологию. Научная работа ученых из разных стран направлена на интенсификацию производства, повышение эффективности использования природных ресурсов, решение экологических проблем и создание новых источников энергии.

# 1. ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ И НАПРАВЛЕНИЯ БИОТЕХНОЛОГИИ

## 1.1 История развития биотехнологии

В настоящее время под *биотехнологией* понимают науку, которая изучает методы получения полезных для человека веществ и продуктов в управляемых условиях, используя микроорганизмы, клетки животных и растений или изолированные из клеток биологические структуры.

Однако биотехнологические методы человек начал применять в своей повседневной жизни задолго до возникновения этого термина. Вероятно, впервые биотехнологические приемы были использованы человеком вместе с появлением городов и развитием таких ремесел как хлебопечение, пивоварение, виноделие и сыроварение. Человек заметил, что продукты питания сохраняются продолжительное время в высушенном, засоленном или засахаренном виде, а также наделял «божественными» свойствами сброженные фруктовые соки.

В средние века центрами развития биотехнологических процессов стали монастыри Западной Европы. Именно там происходило усовершенствование виноделия, хлебопечения и пивоварения.

В современном понимании биотехнология берет свое начало в XIX веке. Одним из наиболее значимых открытий того времени стало получение русским академиком К.С. Киргофом жидкого ферментного препарата амилазы из проросшего ячменя.

В 1864 г. Луи Пастер доказал, что брожение вызывают микроорганизмы. Его исследования послужили основой развития в конце XIX и начале XX вв. бродильного производства органических растворителей (ацетона, бутанола), в том числе этилового спирта.

1875 г. - разработан метод получения чистых культур микроорганизмов, гарантирующий содержание в посевном материале клеток только определенного вида (Р. Кох).

В 1893 г. установлена способность плесневых грибов синтезировать лимонную кислоту (К. Вемер).

В начале XX в. немецкий химик Отто Рём и японский ученый Йокиши Такаmine предложили использовать для технологических целей ферменты, полученные из отходов мясной промышленности или из культуральной жидкости после культивирования плесневых грибов.

В период Первой мировой войны был сделан целый ряд важнейших открытий. В Германии Карл Нейберг разработал метод получения глицерина из дрожжей, а Хаим Вейцман предложил способ производства ацетона, основанный на анаэробной ферментации бактериями рода *Clostridium*.

В 1923 г. было организовано первое микробиологическое промышленное производство лимонной кислоты, а затем молочной, глюконовой и других органических кислот. К настоящему времени наиболее широко используется лимонная кислота – ее применяют при производстве безалкогольных напитков, кондитерских изделий и многих других пищевых продуктов.

1925 г. - установлена возможность искусственного мутагенеза микроорганизмов (грибов) под влиянием рентгеновского облучения (Г.А. Надсон, Г.С. Филиппович).

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

Следующим важным этапом стало обнаружение в 1922 г. Александром Флемингом антибактериального действия пенициллина. Хоурд Уолтер Флори выделил это вещество и впервые применил в медицине. Вторая мировая война способствовала активному поиску и промышленному производству антибиотиков, и к 1950 г. их число превысило 1000.

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

В 1948 г. советским ученым В.Н. Букиным с помощью микроорганизмов был получен витамин В12, который не способны синтезировать ни растения, ни животные.

В 1961 г. установлена способность мутантов бактерий к сверхсинтезу аминокислот (С. Киносита, К. Накаяма, С. Китада). В 1961-1975 гг. было налажено промышленное производство микробиологическим путем аминокислот: глутаминовой, лизина и др.

Еще в 60-х годах ряд нефтяных и химических компаний начали исследования и разработки по созданию биотехнологических процессов получения белка одноклеточных организмов, предназначенного для добавления в пищу животным и людям. Одной из причин этого был недостаток белковой пищи в мире. Наиболее конкурентоспособными оказались процессы на основе метанола и крахмала. На основе углеводородного сырья (жидких и газообразных углеводородов) в 70-х годах в СССР впервые было создано многотоннажное производство кормовых дрожжей.

В конце 60-х годов начали применяться иммобилизованные формы микробных ферментов, которые нашли широкое применение в пищевой промышленности.

В 1972 г. разработана технология клонирования ДНК (П. Берг).

В 1975 г. с возникновением генной инженерии появилась возможность направленно создавать для промышленности микроорганизмы с заданными свойствами. Г. Келер и С. Мильштейн создали метод получения моноклональных антител, была описана технология производства белково-иммуноглобулинов.

Генная инженерия рассматривалась как большой прорыв в науке. К этому времени биотехнология во многих странах представляла собой уже масштабное индустриальное производство.

1976 г. – описаны методики работы с рекомбинантными ДНК, а также разработаны методы определения нуклеотидной последовательности ДНК.

В 1978 г. американская компания «Genetech», являющаяся пионером в области рекомбинантной ДНК-технологии, выпустила инсулин, полученный с помощью бактерий кишечной палочки (*E.coli*).

1980 г. – в США было разрешено патентовать штаммы микроорганизмов, полученных методами биотехнологии.

В 1981 г. проведена микрохирургическая трансплантация эмбрионов животных с целью быстрого размножения высокопродуктивных экземпляров.

1982 г. – в Европе разрешена к применению вакцина для животных, полученная методом рекомбинантных ДНК.

В 1988 г. был создан метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), а спустя два года были официально начаты работы над проектом «Геном человека». Уже в 2003 г. была расшифрована основная часть генома (92%) и только в апреле 2022 года было сообщено, что были секвенированы последние 8% генома человека.

В 1994 г. появился первый американский коммерческий генетически модифицированный организм (ГМО). Это был помидор с уникальной продолжительностью хранения.

1996 г. – получено первое клонированное млекопитающее животное – овца Долли.

2002 г. – появление первого трансгенного животного, аквариумной рыбки с введенным флуоресцирующим белком коралла. Японские биотехнологи разработали первый не содержащий кофеина сорт кофе.

К 2003 г. генетически модифицированные сельскохозяйственные культуры выращиваются уже в 18 странах на общей площади 67,7 млн га: соя — 41,4 млн га (61 %), кукуруза — 15,5 млн га (23 %), хлопчатник — 7,2 млн га (11 %) — это 40-кратный прирост, по сравнению с 1996 г.

2005 г. – Всемирная организация здравоохранения представила отчет «Современная пищевая биотехнология, здоровье и развитие человека», в котором были проанализированы результаты изучения влияния потребления ГМО на здоровье человека и сделаны выводы о безопасности разрешенных к коммерческому использованию трансгенных культур.

2006 г. – американской компании Renessen LLC получено одобрение Министерства сельского хозяйства США на продажу семян первой генетически модифицированной кормовой культуры — сорта кукурузы, отличающегося повышенным содержанием аминокислоты лизина. Также создана порода биотехнологических свиней, сало которых богато омега-3 жирными кислотами. Следует отметить, что к этому периоду количество сельскохозяйственных биотехнологических культур достигло 21, в том числе за счет сортов масличного рапса, кукурузы и хлопка.

Среди перспектив биотехнологии на ближайшее будущее можно выделить 3D принтер, наносящий клеточные культуры на матрицу с питательным раствором, и формирующий искусственные органы, а также лечение тяжелых

ожогов путем нанесения на пораженный участок стволовых клеток, которые образуют новый кожный покров.

Кроме того, активно развивается такое направление как генетический ремонт, которое активно инвестируется мировыми лидерами в области биотехнологии.

## 1.2. Основные направления в биотехнологии

Современный мир столкнулся с глобальными угрозами: экологическими проблемами, продовольственной проблемой, дефицитом энергии, опасными заболеваниями.

Безусловно, роль биотехнологических методов в решении мировых проблем огромна. Наблюдаемые темпы развития биотехнологической науки позволяют предположить, что именно она станет «наукой нового тысячелетия» и во многих отраслях заменит традиционную технологию. Например, при длительном хранении продуктов, в производстве пищевых приправ, полимеров, сырья для текстильной промышленности, метанола, этанола, биогаза и водорода, а также при извлечении некоторых металлов из бедных руд.

В некоторых отраслях промышленности биотехнология уже сегодня играет ведущую роль (рисунок 1).

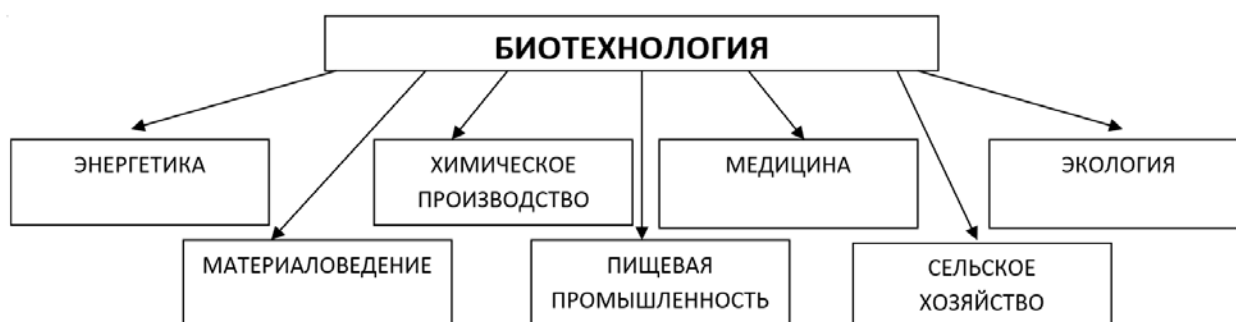


Рис. 1 Основные области применения биотехнологических методов

### *Биотехнология в животноводстве.*

В современном животноводстве наряду с методами популяционной генетики и методами биометрического анализа используются такие био- и генно-инженерные подходы, как искусственное осеменение, оплодотворение *in vitro* (IVF) и перенос зародышей, построение генетических карт. Однако до сих пор трансгенные и клонированные животные используются только в исследовательских целях, но не в практическом животноводстве.

Наряду с этим, биотехнология способна эффективно решать ряд практических задач животноводства. В частности, проблемы кормления сельскохозяйственных животных. Так недостаток кормового белка можно восполнить биотехнологическим путем. Кормовой белок получают



культивированием бактерий, дрожжей, микроскопических водорослей, микро- и макромицетов.

Силосование один из способов увеличения питательной ценности сена с помощью микроорганизмов. Для этого в него вносят специальные закваски и проводят процесс ферментации.

Биотехнологическим путем производят кормовые витамины (А, D, B<sub>2</sub>, B<sub>12</sub>, С и др.), ростовые гормоны белковой природы.

Состояние здоровья организма во многом определяется количественным и качественным составом микрофлоры ЖКТ. Микроорганизмы кишечника принимают участие в процессах пищеварения, иммунных реакциях, обменных процессах организма. При нарушении состава микрофлоры возникает дисбактериоз – симптоматическое состояние, при котором происходит изменение жизненно важных процессов в организме. Нарушается не только пищеварение, но и иммунные процессы, сопровождающиеся проявлениями аллергии или признаками хронического воспаления.

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

Для иммунизации животных с профилактической и лечебной целями применяют вакцины, которые получают на основе ослабленных, инактивированных или дезинтегрированных возбудителей болезней.

Для лечения инфекционных заболеваний животных используют антибиотики, которые вырабатываются микроорганизмами и способны тормозить рост и вызывать гибель бактерий.

#### *Биотехнология в растениеводстве*

Развитие растениеводства идет в направлении увеличения числа сортов растений с типичными признаками, передающимися по наследству. Основными методами получения нового сорта является скрещивание и отбор. Различают линейные, популяционные, синтетические, клонированные и гибридные сорта.

Перспективным направлением в получении гибридных сортов перекрестноопыляемых растений является использование стерильных мужских линий растений, которые получают с помощью генетических методов.

Настоящую революцию в селекции растений произвело получение каллусной, меристемной, протопластной и гаплоидных культур и их регенерация в целые ди- и гаплоидные организмы, что значительно сокращает затраты времени по сравнению с классическими процессами селекции.

Использование методов генной и клеточной инженерии позволило получать трансгенные растения. Первые трансгенные растения были получены в 1983 г., а трансгенные продукты появились в продаже в США в 1994 г. Это были томаты с замедленным созреванием, а также гербицид-устойчивая соя. В

настоящее время получением и испытанием генетически модифицированных растений занимаются сотни коммерческих фирм во всем мире.

Трансгенные растения могут иметь факторы устойчивости к вирусам, грибам, бактериям, гербицидам и инсектицидам, а также обладать различными полезными или декоративными свойствами.

Несмотря на рост производства генетически-модифицированных продуктов, в экономически-развитых странах, использование ГМО продуктов сильно ограничено.

При этом распространение получают биотехнологические методы. Биотехнологическими методами получают многие препараты, повышающие рост и урожайность сельскохозяйственных растений.

Так к физиологическим эффектам гибберелинов относят: удлинение стебля, прерывание покоя семян, стимуляцию образования партенокарпических плодов, стимуляцию цветения, проявление пола у растений, торможение старения растения.

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

Биотехнология предлагает метод создания безвирусной рассады. Например, изолированные клетки клубней картофеля размножают в суспензии. Затем выращенные клетки «пересаживают» в искусственный грунт и из каждой клетки вырастает «клубенок», который высевает в поле как рассаду. В настоящее время таким способом получают рассаду картофеля сорта Луговской, Гранат, Розара, Ред Скарлет, Зекура, Жуковский ранний, Метеор, Тулеевский, Беллороза, Колобок, Иркутский розовый, Красное Лето, Сарма.

Разработаны биотехнологические методы борьбы с вредителями растений. Получены микроорганизмы, которые способны заражать и убивать насекомых, не нанося вреда человеку, животным и самому растению. Разработаны энтомопатогенные препараты – средства борьбы с насекомыми-вредителями растений. Бактериальные препараты изготавливают на основе микроорганизмов *Bacillus thuringiensis*, гриба *Beauveria bassiana* и вирусов.

Еще один способ борьбы с насекомыми – обработка участков поля феромонами (половыми аттрактантами насекомых). Их получают сочетанием микробиологического и химического методов.

#### *Биотехнология в медицине*

Биотехнологическим путем производят диагностические, профилактические и лечебные препараты.

На протяжении истории человечество не раз сталкивалось с инфекциями, охватывающими целые страны, народы или даже континенты. С появлением вакцин и антибиотиков удалось взять под контроль такие заболевания как полиомиелит, бубонная чума, туберкулез, холера, оспа, брюшной тиф. Однако со временем эффективность защитных мер снижается и регистрируются новые вспышки известных инфекций. Появляются новые, ранее неизвестные возбудители. В связи с этим работа над созданием вакцин ведется учеными

всех стран непрерывно. На сегодняшний день существуют разные типы вакцин: цельновирионные, на основе вирусных антигенов, генно-инженерные поливалентные живые вакцины, ДНК вакцины, синтетические пептидные вакцины, антиидиотические, растительные, комплексные, микрокапсулированные, в виде леденцов, чрезкожные.

Традиционные методы производства вакцин основаны на получении инактивированных или ослабленных антигенов. Для производства вакцин используют штаммы, не обладающие патогенностью, но вызывающие иммунный ответ.

По современной технологии культуры животных клеток в биореакторах заражают вирусом. Затем выделенные из культуры клеток вирусы инактивируют формальдегидом или тепловой обработкой. После получения новых препаратов вакцин следует стадия испытаний на экспериментальных животных и только после всесторонней оценки безопасности, проводят испытания на людях.

С помощью биотехнологии получают инсулин. Это пептидный гормон, регулирующий уровень глюкозы крови. При лечении сахарного диабета инсулин незаменим. Изначально инсулин получали из отходов мясной промышленности. Современная технология производства инсулина предполагает использование рекомбинантных штаммов *Escherichia coli* и *Saccharomyces cerevisiae* [6].

Не менее важным является получение с помощью генетической инженерии гормона роста. Данный гормон принимает участие в регуляции многих обменных процессов. Нарушение секреции гормона роста приводит к гигантизму, а у взрослых его избыток вызывает акромегалию – непропорциональное разрастание пальцев, носа и ушей. С помощью парентерального введения гормона удастся исправить это нарушение.

С появлением рекомбинантных гормонов открываются новые возможности в терапии многих заболеваний, например применение паратгормона для лечения остеопороза.

Развитие методов генетической инженерии позволило разработать препараты для поддержания вязкости крови и терапии нарушений, связанных с ней. К таким веществам относят антикоагулянты: гепарин, герудин, тканевой активатор плазминогена и другие тромболитики.

Полученные с помощью биотехнологии эмбриональные стволовые клетки применяются в создании коллекции клеточных культур различных линий с целью изучения действия новых лекарственных препаратов на ткани организма, а также в терапии хронических заболеваний:

Методы тканевой инженерии позволяют заменять поврежденные ткани путем трансплантации. Разработаны искусственно выращенные ткани целых органов: костей, хрящей, роговицы глаза, мышц, кровеносных сосудов, печени и нервных клеток. Биотехнология и методы клеточной инженерии позволили получать биосовместимые материалы.

Кроме того, методами биотехнологии производят антибиотики, витамины (В<sub>2</sub>, В<sub>12</sub>, D), инсулин, иммуномодуляторы, иммунодепрессанты, кровезаменители. Получают микробиологическим путем коферменты – это вещества, которые усиливают деятельность собственных ферментов в организме человека.

Культивированием изолированных клеток получают биоразлагаемые полимеры (полигидроксибутират), которые применяют в хирургии, где из него формируют нити, штифты для соединения костей.

#### *Биотехнология в пищевой промышленности.*

В пищевой промышленности методы биотехнологии применялись задолго до появления самого термина «биотехнология». Так, напитки, содержащие этиловый спирт, существуют уже несколько десятков веков практически во всех мировых культурах. В Западной Европе это пиво, вино, сброженные фруктовые соки и игристые вина, а в странах Азии – это рисовая водка сакэ.

Сырье для производства таких напитков как вино, пиво, квас, сидр сброживают с помощью различных видов дрожжей. Сакэ готовят с применением спор грибов.

Микроорганизмы нашли широкое применение в консервировании пищевых продуктов. Например, при квашении капусты консервирующее действие оказывают продукты молочнокислого брожения, снижающие рН среды.

Микроорганизмы служат в качестве закваски при производстве кисломолочных продуктов, различных сортов хлеба и хлебобулочных изделий.

С помощью стартовых культур стафилококковых бактерий (*Staphylococcus carnosus*), лактобактерий, бактерий рода *Penicillium* производят сырокопченые колбасы. В результате деятельности микроорганизмов в сырокопченых колбасах образуются продукты гидролиза жиров и белков, которые обеспечивают специфический вкус колбасного изделия. Данные вещества способствуют лучшему усвоению продукта организмом человека. С использованием микроорганизмов получают соевый соус и соус мисо.

По разным подсчетам в мире примерно треть всех продуктов питания получают путем ферментации, осуществляемой определенными штаммами микроорганизмов.

Различные микроорганизмы применяют для получения пищевых добавок. Так культивированием разного рода микроорганизмов получают пищевые кислоты: лимонную, яблочную, молочную. Микробиологическим путем получают и глутамат, усиливающий аромат мясных, рыбных, грибных изделий. Микроорганизмы или изолированные клетки высших грибов используют для получения пищевых красителей желтого, красного, синего цвета. Например, так получают краситель оранжевого цвета бета-каротин (провитамин А).

Для производства загустителей используют полисахариды микробного происхождения. Например, стабилизатор декстран, полученный биотехнологическим способом, используют при производстве мороженого.

Вещества, увеличивающие срок годности продукта, имеют микробное происхождение. Например, низин – выделяется специальными штаммами молочнокислых бактерий.

Благодаря развитию биотехнологии стало возможным получение пищевого белка из микроорганизмов. Пищевой продукт микопротеин получают на основе биомассы мицелиальных грибов рода *Fusarium*. Для вкуса и цвета в него вводят специальные пищевые добавки. Стало возможным культивировать мицелий высших съедобных грибов (вешенки, опята, маслята).

Для производства многих продуктов применяются ферменты, полученные биотехнологическим путем. Так для производства растворимого кофе применяется фермент целлюлаза, глюкозооксидаза – для удаления кислорода из сухого молока, кофе, пива, майонезов, соков, протеаза – для размягчения мяса, бета-галактозидаза – для получения «безлактозного» молока; пектиназа – для осветления соков.

#### *Биотехнология на страже окружающей среды.*

В начале XX века были впервые запущены системы очистки сточных вод. Первыми видами очистных устройств стали капельные фильтры и методы с использованием активного ила. В настоящее время все развитые страны очищают сточные воды биологическими методами с использованием активного ила. Аналогом активного ила является аэробное биокомпостирование твердых отходов. Это позволяет превратить отходы в удобрение или использовать их в качестве стройматериала.

Применение анаэробного сбраживания жидких концентрированных отходов позволяет получить газ, состоящий из смеси метана и диоксида углерода. Такой газ используют для отопительных целей. Для очистки газовых выбросов применяют биофильтры, заполненные насадкой, на которой закреплены специальные микроорганизмы. При этом вредные примеси сорбируются на насадке, а затем потребляются и обезвреживаются микроорганизмами [8,9].

Несмотря на меры по контролю за состоянием окружающей среды периодически происходят экологические катастрофы (разлив нефти, промышленные выбросы и др.). В связи с чем для восстановления загрязненных территорий требуются биотехнологические методы. Микроорганизмы нашли применение в качестве сорбента для ионов тяжелых металлов из стоков (медь, никель, хром, свинец и др.). Их биомасса является сырьем для получения цветных металлов.

#### *Биотехнология в энергетике.*

Проблему недостатка источников энергии и накопления отходов возможно решить биотехнологическими методами. Органические отходы с помощью биотехнологии перерабатываются в биогаз путем метанового брожения.

Также известны фототрофные бактерии, которые способны выделять водород и образовывать кислород. Данный процесс назван биофототролизом воды. В настоящий момент это направление еще не дало практических результатов, но является весьма перспективным.

Возможно с помощью микроорганизмов осуществлять синтез углеводов. Для получения жидких углеводов используют микроводоросли *Botriococcus braunii*. Данная технология активно развивается в США.

По всему миру разрабатываются технологии получения с помощью микроорганизмов моторного масла. В России с этой целью используют древесину, в Бразилии – сахарный тростник, а в США – кукурузу.

*Биотехнология химических соединений и материалов.*

Биотехнология позволяет получить такие вещества как растворители, органические кислоты, красители, а также биоразлагаемые полимеры. Путем сбраживания отходов пищевых производств получают смесь растворителей (60% бутанола, 30% ацетона и 5-10% этанола), а также газы – водород и диоксид углерода. Бутанол используют при производстве пластмасс, а ацетон – как растворитель.

Для получения каучука, пластмасс, синтетических волокон и инсектицидов применяют техническую уксусную кислоту. Молочная сыворотка является сырьем при производстве биоразлагаемого полимера полилактата. Отходы сахарного производства применяют для получения лимонной кислоты, которую затем применяют в производстве пластмасс.

Культивирование клеток такого растения как воробейник краснокорневой позволяет получить вещество шиконин – ярко-красный краситель.

Установлено, что бактерии *Thiobacillus ferrooxydans* используют для перевода сульфидных минералов в раствор при бактериальном выщелачивании таких металлов как медь, цинк, уран, серебро.

### **Вопросы для самопроверки**

1. Дайте определение понятию «биотехнология».
2. Назовите основные сферы применения биотехнологии.
3. Приведите примеры применения биотехнологии в сельском хозяйстве, медицине, пищевой промышленности, энергетике.
4. Назовите основные открытия в биотехнологии, совершенные в XX веке.
5. Как биотехнология позволяет решать экологические проблемы?
6. Какие вещества, полученные с помощью биотехнологии, могут способствовать решению проблемы голода в мире?
7. Какие отрасли пищевой промышленности использовали биотехнологические методы задолго до появления термина «биотехнология»?
8. Назовите первое сельскохозяйственное растение, полученное биотехнологическим путем.
9. Какие пищевые добавки получают биотехнологическим путем?
10. Какие ученые внесли вклад в развитие биотехнологии?

## 2. ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ

### 2.1. Строение прокариотической клетки

Прокариотические организмы близки по строению к самым ранним клеткам-прародительницами – это древние доядерные, одноклеточные организмы. К прокариотам относят бактерий, цианобактерий и архебактерий. Поверхностный аппарат бактериальных клеток состоит из плазматической мембраны, муреиновой клеточной оболочки и слизиной капсулы. У некоторых бактерий над клеточной оболочкой присутствует дополнительный липидный бислой. На поверхности прокариотической клетки могут находиться белковые структуры, формирующие органы движения – жгутики и органы прикрепления – пили.

Наследственный аппарат прокариот представляет собой нуклеоид. Это особая зона клетки, в которой находится единственная кольцевая ДНК.

Бактериальная клетка не имеет мембранных органоидов. То есть у бактерий отсутствуют митохондрии, пластиды, ЭПС, комплекс Гольджи. Рибосомы бактериальной клетки мелкие (рисунок 2). Они рассеяны по цитоплазме или прикреплены к наружной мембране.

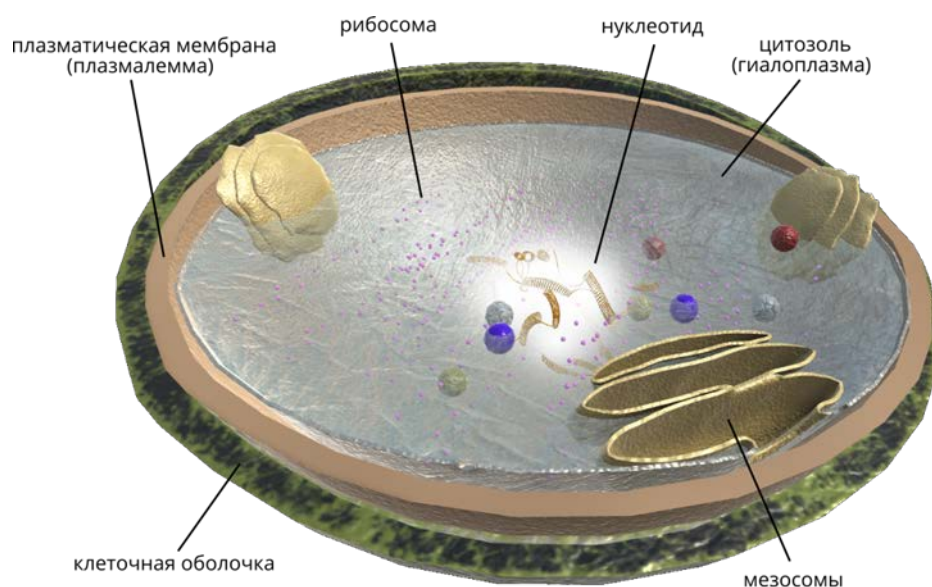


Рис. 2 Строение прокариотической клетки

Основные метаболические процессы проходят на выпячиваниях плазматической мембраны – мезосомах.

Несмотря на сравнительную простоту строения, прокариоты очень разнообразны в биохимическом отношении. У бактерий обнаруживаются все основные метаболические пути, включая процесс получения энергии. Многие из них способны синтезировать все необходимые вещества из нескольких

простых соединений. Они успешно адаптировались к разнообразным условиям среды.

Бактерии различаются по форме. Кокки – это круглые бактерии, бациллы – палочковидные бактерии, спириллы – спиралевидные, вибрионы – изогнутые. Клетки бактерий могут объединяться в грозди или цепочки. Грозди кокков называют стафилококками, а цепочки – стрептококками.

Бактерии различаются по способам питания. Бактерии, которые питаются автотрофно, синтезируют органические вещества из неорганических. К автотрофам относятся, например, хемосинтезирующие железобактерии и серобактерии.

Хемосинтез – образование органических веществ из неорганических с использованием энергии химических реакций.

Цианобактерии – это автотрофные бактерии, клетки которых способны к фотосинтезу (синтезу органических веществ из неорганических с использованием энергии солнечного света). Цианобактерии часто называют сине-зелеными водорослями. Еще в первой половине XX века их считали одноклеточными растениями, но дальнейшее изучение показало, что клеточное строение сине-зеленых водорослей соответствует прокариотическому типу и, следовательно, это бактерии.

Бактерии могут быть гетеротрофами – организмами, которые потребляют готовые органические вещества. Среди них бактерии-сапрофиты, бактерии-паразиты и бактерии-симбионты.

Бактерии-сапрофиты питаются гниющими остатками живых организмов. Они выделяют в органические вещества ферменты, которые их растворяют, после чего бактерии всасывают и переваривают растворенную органику.

Бактерии-симбионты также питаются органическими веществами, но живых организмов. При этом они не наносят им вреда, а даже приносят пользу. Например, клубеньковые бактерии живут на корнях бобовых растений. Эти бактерии усваивают из воздуха азот и переводят его в формы азотных соединений, которые могут быть усвоены растениями. В кишечнике человека живут бактерии, которые помогают переваривать пищу и вырабатывают некоторые витамины.

Бактерии-паразиты, питаясь живыми организмами, наносят этим организмам вред, то есть вызывают различные заболевания. В растения бактерии могут проникать через повреждения их покровов, они способны заражать все органы растения и семена. Болезнетворные бактерии могут переносить разные насекомые, птицы и животные.

Различаются бактерии и по способу клеточного дыхания, они могут быть аэробами - использовать кислород или анаэробами – это бактерии, которые получают энергию из органических веществ при дыхании без участия кислорода.



## 2.2. Стадии и кинетика роста микроорганизмов

Закономерности клеточного роста микроорганизмов хорошо изучены. Однако кинетика образования метаболитов весьма отличается для разных видов. Большинство бактерий, а также дрожжи размножаются делением. Процесс роста этих микроорганизмов делится на шесть фаз клеточного роста (рисунок 3). I фаза называется *лаг-фаза*. Микроорганизмы, попадая в свежую питательную среду, начинают размножаться не сразу. В этот период культура адаптируется к новым условиям. Активируются ферментные системы, синтезируются новые ферментные системы, клетка готовится к синтезу нуклеиновых кислот и других соединений. Продолжительность этой фазы зависит от физиологических особенностей микроорганизмов, состава питательной среды и условий культивирования. Чем эти различия меньше и чем больше посевного материала, тем короче эта фаза.

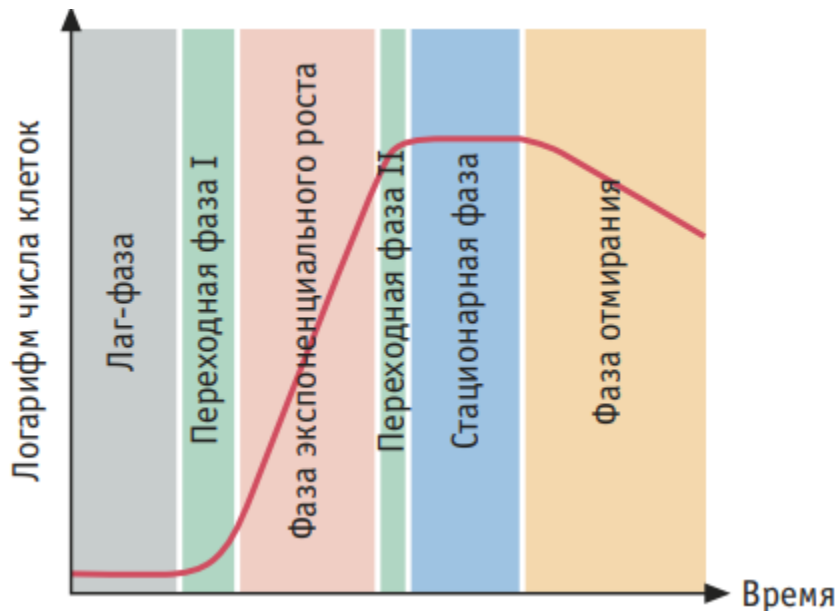


Рис. 3 – Кривая роста микроорганизмов  
(зависимость количества клеток от времени культивирования)

За лаг-фазой, следует II фаза - *ускоренного роста*. Для нее характерно начало деления клеток, увеличение общей массы популяции и постоянное увеличение скорости роста культуры. Данная фаза непродолжительна. За ней наступает *логарифмическая*, или *экспоненциальная* фаза роста - III фаза. В этот период наблюдается максимальная скорость роста культуры. Интервалы между появлением предыдущего и последующего поколения постоянны. Логарифм числа клеток линейно зависит от времени.

По мере роста культуры запас питательных веществ в среде уменьшается, что становится причиной снижения скорости роста культуры. Помимо этого, в среде накапливаются продукты метаболизма, которые могут мешать нормальному протеканию биохимических процессов обмена веществ, а иногда новым клеткам просто не хватает поверхности. В результате скорость роста

снижается, уменьшается число делений клеток и наступает IV фаза – фаза *замедления* или уменьшения скорости роста.

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

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

### 2.3. Продукты микробного брожения и метаболизма

Образование целевых продуктов может быть связано или не связано с ростом клетки. Согласно классификации, процессы ферментации, сопряженные с клеточным ростом, делят на два типа:

I тип – *первичные метаболиты*. Это низкомолекулярные соединения, которые необходимы микроорганизмам для роста. Они требуются клеткам в качестве строительного материала для макромолекул или коферментов. К первичным метаболитам относят аминокислоты, органические кислоты, пуриновые и пиримидиновые нуклеотиды, витамины.

Продуцентами первичных метаболитов служат природные организмы и культуры с нарушениями регуляции синтеза этих метаболитов, так как обычные микробные клетки не производят избытка первичных метаболитов.

II тип – *вторичные метаболиты*. Это низкомолекулярные соединения, которые не требуются для роста микроорганизмов. Они образуются в клетках по окончании экспоненциальной фазы. К ним относят антибиотики, алкалоиды, гормоны роста растений, токсины и пигменты.

Кроме первичных и вторичных метаболитов целевым продуктом может являться сама *клеточная биомасса*, так называемые белки одноклеточных микроорганизмов.

### 2.4. Способы культивирования микроорганизмов

*Ферментация (культивирование)* – это совокупность последовательных операций от внесения в подготовленную питательную среду посевного материала до завершения процессов роста и биосинтеза в результате истощения питательных веществ в среде.

Существует множество процессов культивирования микроорганизмов, но все они классифицируются по определенным признакам:

- по содержанию кислорода – аэробные и анаэробные;
- по количеству ферментеров – одно-, дву- и многостадийные;
- по наличию или отсутствию перемешивания – динамические и статические;
- по состоянию питательной среды – поверхностные и глубинные.
- по способу действия - периодические, непрерывные и промежуточные.

*Периодический способ* ферментации предполагает засев стерильной питательной среды чистой культурой продуцента и дальнейшее выращивание в этой же емкости микроорганизмов при определенных условиях. Когда процесс ферментации завершается, емкость освобождают, и цикл повторяется, начиная от засева питательной среды исходной культурой продуцента. При таком способе ферментации скорость роста биомассы всегда стремится к нулю в результате недостатка питательных веществ или накопления токсических метаболитов в среде.

При периодическом способе выращивание культуры осуществляют в пробирках, колбах, матрасах или бутылках. Выращенная в таких условиях культура разнородна по физиологическому состоянию, поскольку на различных участках поверхности и в разных слоях она находится в различных условиях и развивается неодинаково.

Периодическим способом получают посевной материал, а также аминокислоты, вакцины.

*Промежуточные способы культивирования.*

К промежуточным способам относят продленные периодические, многоциклические и полунепрерывные.

При продленном периодическом способе, как и при периодическом, происходит одноразовая загрузка и разгрузка ферментера. Однако продолжительность развития микроорганизмов при таком способе может удлиняться двумя способами: подпиткой или диализом.

Подпитка – это периодическое или непрерывное добавление питательной среды. При диализе происходит длительное удержание клеток в системе в результате чего увеличивается экспоненциальная фаза. Суть процесса диализа состоит в том, что культура развивается в пространстве, ограниченном полупроницаемой мембраной, через которую продукты метаболизма переходят во внешний раствор.

При многоциклических способах культивирование культуры повторяется много раз подряд без стерилизации емкости. Многоциклические процессы могут быть одностадийными и многостадийными. Если процесс ведут в одном ферментере, такой процесс, называют одностадийными. В случае, когда происходит повторное и последовательное культивирование, протекающее в нескольких ферментерах, соединенных в батарею, процесс называют многостадийным. Таким способом получают саму биомассу, а также антибиотики, внеклеточные ферменты, аминокислоты. Такой способ имеет значительное преимущество над периодическим поскольку позволяет сократить затраты труда на производство продукта.

Полунепрерывные системы отличаются тем, что в процессе роста культуры часть культуральной жидкости сливается и заливается свежая питательная среда. Полунепрерывные системы используются в производстве дрожжей, водорослей, антибиотиков и лимонной кислоты.

*Непрерывный способ.*

Непрерывный способ характеризуется тем, что культура постоянно получает приток свежей питательной среды, и непрерывно отбирается биомасса вместе с образуемыми метаболитами. Преимуществом данного способа является то, что культура не отравляется продуктами обмена веществ по сравнению с периодическим способом. Ферментация непрерывным способом имеет несколько разновидностей: гомогенные системы идеального смешения, системы полного вытеснения и системы твердожидкостного типа [1,2].

Гомогенные системы идеального смешения. В данной системе микроорганизмы развиваются в культуральной среде с постоянным составом. При этом сама культура находится в одном и том же физиологическом состоянии, то есть в состоянии динамического равновесия. В зависимости от количества ферментеров гомогенные системы могут быть одностадийными, двухстадийными и многостадийными.

Основным аппаратом для выращивания непрерывной гомогенной системы является ферментер. При многостадийном способе культура выращивается в системе, состоящей из ряда последовательно соединенных ферментеров – батареи. Многостадийное культивирование применяется при получении молочной кислоты, этилового спирта.

Хеостатный способ идеального смешения предполагает культивирование в ферментере называемом хеостат. В нем скорость разбавления питательной среды поддерживается постоянной в соответствии с требуемой плотностью культуры.

При турбидостатном способе подача питательной среды осуществляется с помощью фотоэлектрического элемента, регистрирующего оптическую плотность культуры в ферментере. Скорость разбавления контролируется и устанавливается автоматически.

В системах культивирования по принципу полного вытеснения, культура представляет собой поток жидкости через трубку. Данный способ осуществляется с помощью трубчатого ферментера, выполненного в виде S-образной или спиральной трубы, установленной горизонтально или вертикально.

Перемещаясь по ферментеру, культура проходит через все стадии роста, причем каждой части ферментера соответствует определенный отрезок кривой роста. Этот принцип применяется при производстве пива.

Системы твердожидкостного типа. Системы твердожидкостного типа представляют собой многофазные системы, а клетки размножаются на наполнителе, образуя пленку биомассы. Этот способ применяется, например, при производстве уксуса в стружечных аппаратах [3].

Культивирование микроорганизмов, образующих пленку, осуществляется в ферментере типа колонки с наполнителем. В качестве наполнителя используется кокс, прутья, стружка, стеклянные шарики, амберлитовые смолы, частички сефадекса. Клетки, выращиваемые таким образом, называют иммобилизованными.

Данный способ имеет несколько преимуществ по сравнению с другими:

- возможность продолжительной эксплуатации клеток в случае непрерывной ферментации.

- возможно повышение устойчивости клеток к действию таких неблагоприятных внешних факторов как температура, кислотность, концентрация токсичных веществ.

- упрощаются процесс выделения самих клеток и культуральной жидкости.

- снижаются энергозатраты на процесс выращивания.

В промышленной микробиологии системы твердожидкостного типа нашли применение при очистке сточных вод, в производстве органических растворителей и кислот.

## 2.5. Культивирование животных и растительных клеток

Культуры изолированных клеток и тканей является достаточно новым и очень перспективным направлением.

Изолированные растительные клетки применяют в селекции растений устойчивых к таким неблагоприятным факторам среды как засуха, засоление, фитопатогены, ионы тяжелых металлов.

Вторым направлением применения культуры изолированных клеток растений является получение тканей для размножения и оздоровления посадочного материала. Этот метод, называется клональным микроразмножением растений. Он широко используется при культивировании декоративных, тропических и цветочных растений.

Третье направление – это получение ценных для медицины, парфюмерии, косметики и других отраслей промышленности веществ вторичного синтеза (алкалоиды, стероиды, гликозиды, эфирные масла) на основе клеточных культур растений. Вторичные вещества получают из каллусной ткани, культивируемой на твердой (агаризованная) или жидкой (суспензионная культура) питательной среде.

На основе клеточных технологий получают такие медицинские препараты, как диосгенин – из клеток диоскореи, аймалин – из клеток раувольфии змеиной, тонизирующие вещества – из клеток женьшеня. Продуктивность культивируемых клеток в результате их селекции *in vitro* может значительно превышать продуктивность целых растений. Преимущество данного способа заключается в возможности использовать для этой цели растения, не произрастающие в наших природных условиях, и получать продукцию круглый год [4].

Процесс культивирования животных клеток весьма трудоемкая и дорогая процедура. В связи с этим актуальным является получение определенных белков с использованием трансгенных животных и растений.

Изучается возможность культивирования клеток человека для получения тканей для трансплантации и тестирования действия лекарств, а также для обнаружения вирусов и разработки противовирусных вакцин.

Клетки определенной ткани человека, полученные от донора и размножившиеся в питательной среде, можно заморозить и хранить в морозильных установках при  $-120^{\circ}\text{C}$ . Это позволяет создать банки клеток различных тканей, как здоровых, так и имеющих определенную патологию. После изъятия из банка, клетки хранят в жидкой среде, а затем помещают на твердую питательную среду.

Таким образом, процесс культивирования клеток человека в будущем позволит создавать искусственные ткани, например, кожу. Другим не менее перспективным направлением является культивирование стволовых клеток человека, которые могут превращаться в любые клетки организма.

С целью получения белков терапевтического назначения используют линии клеток млекопитающих. Они могут неограниченно делиться и характеризуются следующими свойствами:

- 1) «бессмертность»;
- 2) легкость проведения трансформации;
- 3) возможность роста в суспензии с высокой плотностью клеток;
- 4) высокая скорость деления клеток;
- 5) нестрогие требования к условиям среды.

В промышленности применяют клетки следующих типов:

- 1) гибридомные клетки;
- 2) фибробласты клеток яичника китайского хомячка (клетки СНО);
- 3) опухолевые клетки из почек сирийского хомячка (клетки ВНК).

### **Вопросы для самопроверки**

1. Дайте определение понятию ферментация.
2. По каким признакам классифицируют способы культивирования?
3. В чем отличие периодического от непрерывного способа ферментации?
4. Какие способы относят к промежуточным?
5. Назовите преимущества непрерывного способа культивирования?
6. Охарактеризуйте хемостатный и турбидостатный способы?
7. Какие клетки называют иммобилизованными?
8. Какие преимущества у способа получения веществ с использованием иммобилизованных клеток?

### 3. ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ: РОСТ В ИСКУССТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ

#### 3.1. Питательные среды

Питательная среда необходима для роста и развития биообъекта, а также эффективного синтеза целевого продукта. Состав питательной среды подбирается в зависимости от требований микроорганизмов. Субстрат должен содержать все необходимые для построения клетки питательные вещества, макро- и микроэлементы.

Составные компоненты субстрата могут находиться в виде истинного (минеральные соли, аминокислоты, карбоновые кислоты, спирты, альдегиды), либо коллоидного (белки, липиды, неорганические соединения - гидроксид железа) раствора. Отдельные компоненты могут находиться в твердом агрегатном состоянии, могут всплывать или равномерно распределяться по всему объему в виде взвеси, а также образовывать придонный слой (частицы угля, серы) [10].

Питательные среды могут быть *естественными, полусинтетическими и синтетическими*. *Естественные среды* имеют неопределенный состав. В основном это биогенные вещества (мясной экстракт, кукурузная мука, морские водоросли). Готовят естественные среды на водопроводной воде.

*Синтетические среды* – это смесь чистых химических соединений, основой которой является дистиллированная или бидистиллированная вода. Компоненты синтетических сред смешивают в строго определенном соотношении, в соответствии с потребностями микроорганизмов.

Применяются также и *полусинтетические среды* — это среды, в состав которых наряду с соединениями синтетического происхождения, включены вещества биогенного происхождения (мясопептонный бульон с глюкозой и фосфорнокислым калием, картофельная среда с глюкозой и пептоном)

Компонентный состав питательной среды зависит от потребностей культивируемого биообъекта.

Автотрофы синтезируют вещества из  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  с использованием энергии света (фотоавтотрофы) либо химических реакций (хемоавтотрофы). Поэтому они не требуют для своей жизнедеятельности органических веществ, им достаточно минеральных солей. Например, для биотехнологического извлечения металлов из руды путем окисления их с помощью микроорганизмов ее просто обливают водой.

Гетеротрофные микроорганизмы подразделяются на следующие типы:

- органотрофы — в качестве источника используют органическое вещество;
- литогетеротрофы — как источник углерода используют органическое вещество;
- органогетеротрофы — используют органические вещества как источник углерода и энергии.

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

Неотъемлемым компонентом питательной среды для роста микроорганизмов является вода. В биотехнологических производствах используется артезианская и водопроводная вода, а также вода из водоемов, прошедшая специальную обработку.

К воде предъявляются следующие общие требования:

- в воде должны отсутствовать микроорганизмы,
- по органолептическим показателям должна быть: бесцветной, без вкуса и запаха.
- по физико-химическим показателям: общая жесткость — не более 7 мг-экв/л, ограничивается содержание свинца, цинка, меди и фтора.

*Источники углерода.* Источниками углерода и энергии для продуцентов в биотехнологии являются различные сахара, спирты и алканы.

По доступности вещества можно разделить на группы:

- легкодоступные – к ним относят сахара (глюкоза, сахароза, лактоза),
- многоатомные спирты (глицерин, маннит);
- полисахариды (целлюлоза, гемицеллюлоза, крахмал) – могут быть источниками углерода либо после превращения их в усвояемые микроорганизмами моно- и низкомолекулярные олигосахариды, либо использоваться непосредственно, если микроорганизмы имеют ферменты, гидролизующих эти вещества. Например, плесневые грибы родов *Aspergillus*, *Penicillium*, бактерии рода *Bacillus* и другие.

Известно большое количество микроорганизмов, которые способны утилизировать органические кислоты, особенно в анаэробных условиях.

К числу перспективных видов сырья относят низкомолекулярные спирты (метанол и этанол). Так дрожжи родов *Candida*, *Hansenula* способны ассимилировать этанол, а дрожжи *Pichia*, *Candida*, бактерии рода *Flavobacterium* в качестве единственного источника углерода используют метанол.

Незначительная часть микроорганизмов способна использовать в качестве источника углерода и энергии углеводороды (n-алканы и некоторые фракции нефти).

*Источники азота.* Азот может быть использован в форме неорганических солей или кислот. Большинство дрожжей способны усваивать аммиачные соли и аммиак из водного раствора, потребность в нитратах имеют лишь некоторые виды дрожжей. В качестве источника азота могут быть использованы органические соединения (аминокислоты, мочевины), которые легко усваиваются микроорганизмами.

*Источники фосфора.* Фосфор является одним из главных компонентов клетки поскольку входит в состав АТФ, АДФ, АМФ и тем самым обеспечивает энергетический обмен в клетке, а также такие процессы биосинтеза как синтез белков и нуклеиновых кислот. В питательные среды фосфор вносят в виде солей фосфорной кислоты.



*Источники витаминов и микроэлементов.* Потребность микроорганизмов в данных соединениях различна. При этом, практически все микроорганизмы лучше растут в присутствии витаминов. В качестве витаминной добавки используют кукурузный экстракт, дрожжевой автолизат, дрожжевой экстракт, сок картофеля, молочную сыворотку, экстракт солодовых ростков и другие продукты.

Микроэлементы в состав питательных сред вносятся в микродозах, иначе они оказывают угнетающее действие на микробные клетки.

Составление питательной среды производят для конкретного вида микроорганизма, подбирая наиболее подходящие источники углерода, азота, фосфора и других веществ.

Широкое распространение получили универсальные субстраты биогенного происхождения. В основном они являются побочными продуктами производства сахара, компонентами нефти и природного газа, отходами сельского хозяйства, деревообрабатывающей и бумажной промышленности. Наиболее часто в качестве компонентов питательных сред используются отходы пищевых производств. Например, меласса, ячменное сусло, солод, молочная сыворотка.

Свекловичная меласса – это отход производства сахара из свеклы. Она богата органическими и минеральными веществами, содержит 45-60 % сахарозы, 0,25-2,0 % инвертного сахара, 0,2-3,0 % рафинозы. Кроме того, в ней содержатся аминокислоты, органические кислоты и их соли, бетаин, минеральные вещества, а также некоторые витамины. Спрос на мелассу превышает предложение, поскольку она используется для биотехнологического производства лимонной кислоты и этанола.

Меласная барда – это отход производства этанола на мелассе. Химический состав барды зависит от состава исходной мелассы и содержит 6-12% сухих веществ. По химическому составу меласная барда – это полноценное сырье для производства кормовых дрожжей, не требующее добавок ростовых веществ, так как содержит достаточное количество витаминов.

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

Пивная дробина и солодовые ростки – это отходы пивоварения. Они являются подходящим, однако несущественным источником усвояемых углеводов для получения микробного белка. При производстве кормовых дрожжей это сырье соответствующим образом гидролизуют и вводят в питательную среду в соотношении 8:0,2:0,05 (дробина:ростки:отходы ячменя).

Пшеничные отруби – это отход мукомольного производства, имеющий богатый химический состав, в следствии чего может быть использован в качестве единственного компонента питательной среды. Однако пшеничные отруби являются дорогим продуктом, поэтому их смешивают с более

дешевыми компонентами: древесными опилками, солодовыми ростками, фруктовыми выжимками.

Молочная сыворотка – является отходом производства продукции из молока: сыров, творога, казеина. В зависимости от источника получения различают подсырную, творожную и казеиновую сыворотку. По химическому составу и энергетической ценности данный продукт богат разнообразными биологически активными соединениями и содержит 70-80 % лактозы, 7-15 % белковых веществ, 2-8 % жира, 8-10 % минеральных солей. Кроме того, содержит органические кислоты, витамины и микроэлементы.

Богатый химический состав и наличие в молочной сыворотке легкоусвояемых источников углерода, позволяет ее отнести к наиболее ценным питательным средам для получения продуктов микробного синтеза. Кроме того, применение молочной сыворотки не требует специальной подготовки, а культуральная жидкость после выращивания микроорганизмов может быть использована в пищевых и кормовых целях без обработки.

Дешевым и доступным субстратом являются углеводороды нефти. Если их используют для получения пищевого белка или медицинских препаратов, то требуется тщательная очистка от канцерогенных примесей [14].

Гидролизаты древесины. С помощью высокотемпературного кислотного гидролиза древесину преобразуют в гидролизаты. В результате гидролиза из целлюлозы и пентозанов образуется глюкоза и другие сахара. Процент полученных в результате гидролиза сахаров зависит от породы древесины и технологии гидролиза и в среднем составляет от 4 до 8 %. Помимо древесины применяются такие сельскохозяйственные отходы как солома, кукурузные кочерыжки, стебли хлопчатника.

Сульфитные щелока – это отходы целлюлозно-бумажного производства, продукты гидролиза лигнина и гемицеллюлозы. Содержит до 3,5% сахаров.

Гидролизаты торфа – это продукты кислотного гидролиза торфа, содержащие до 25 - 30 % редуцирующих веществ, азот и фосфор.

Применяется сок растений (коричневый сок), содержащий до 2 % сахаров.

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

Увеличивается применение твердофазного культивирования, которое значительно проще и дешевле традиционной технологии.

Разрабатываются газофазные реакторы с использованием в качестве субстратов нерастворимых газов —  $H_2$ ,  $CH_4$ ,  $CO$ .

Таким образом, задача работников, подготавливающих среды для конкретного вида микроорганизма – это выбрать источники углерода, азота, фосфора и других веществ, которые наиболее оправданы в экономическом и экологическом отношении.

Приготовление питательных сред производят в отдельном цехе, который оснащен емкостями для хранения жидких и твердых веществ, средствами для их транспортировки и аппаратами с перемешивающими устройствами.

Ингредиенты для питательных смесей в необходимых количествах подаются в аппараты с мешалками. Жидкие и твердые источники углерода

вводятся в подготовленную питательную среду перед ферментацией, с целью предотвращения заражения посторонней микрофлорой,

При непрерывном культивировании углеводов и растворы солей вводят в аппарат отдельно по индивидуальным линиям, а смешение и эмульгирование нерастворимых в воде n-алканов происходит уже в самом биореакторе. При использовании в качестве питательной среды метана, его постоянно барботируют воздухом через специальные устройства.

При периодической ферментации инокулят вносится непосредственно в подготовленную питательную среду, источники углерода вводят перед посевом, а отдельные компоненты среды вводятся в среду по мере их потребления культурой.

На основе вышесказанного можно сделать вывод, что состав питательной среды прежде всего должен отвечать потребностям микроорганизмов, а сырье, используемое для получения целевого продукта, должно быть недефицитным, недорогим и легко доступным.

### 3.2. Оборудование

Для культивирования микроорганизмов и культур клеток в биотехнологии используется различное технологическое оборудование. При лабораторных исследованиях это могут быть качалки и роллеры, при производстве в промышленных масштабах – биореакторы и ферментеры.

Качалочные колбы применяются при культивировании микроорганизмов в жидкой питательной среде.

В лабораторной практике используют конические колбы объемом 50–500 мл – колбы Эрленмейера (рис. 4).



Рис. 4 Колба Эрленмейера

Колбы помещают на специальные перемешивающие платформы и обеспечивают доступ кислорода. Скорость вращения составляет 50–120 об/мин. Для культивирования микроорганизмов в анаэробных условиях среду стерилизуют, деаэрируют и все последующие операции проводят в бескислородной среде с добавлением восстанавливающих агентов, например тиогликолята.

Промышленное выращивание клеток осуществляют в биореакторах или ферментерах (рис. 5)

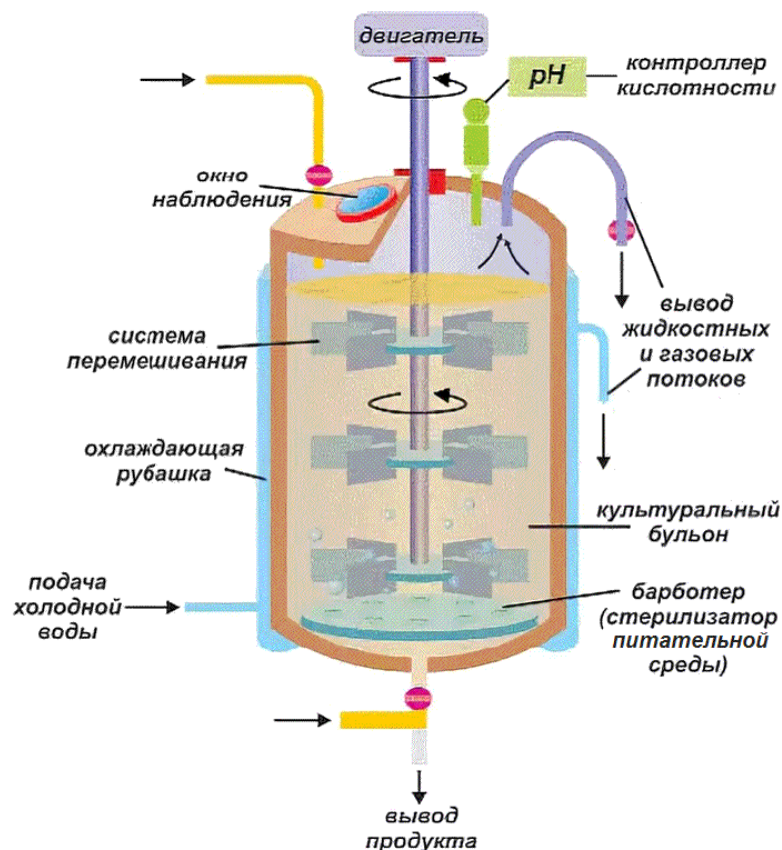


Рис. 5 Устройство биореактора

Биореактор – это аппарат для культивирования микроорганизмов/эукариотических клеток, в котором осуществляют ферментативные реакции. Основными элементами ферментера являются двойные стенки, пространство между которыми заполнено жидкостью, входные отверстия для газовых и жидких потоков, система контроля за составом питательной среды и условиями внутри реактора (температура, содержание кислорода и др.) [11,13].

Биореакторы могут быть выполнены в двух вариантах:

1. для нестерильных систем – предназначены для процессов, в которых нет необходимости работать с чистыми культурами микроорганизмов (например, при производстве пива, пекарских дрожжей);
2. для асептических процессов - используются в производстве таких соединений как, антибиотики, аминокислоты, полисахариды и одноклеточный бактериальный белок. В реакторах данного типа присутствие посторонних микроорганизмов исключается.

Главная задача при использовании реактора любого типа – это получение клеток с одинаковыми свойствами, при их выращивании в определенных контролируемых условиях.

Для достижения указанной задачи необходимо оптимизировать физико-химические условия выращивания продуцентов. Основными контролируемыми параметрами выращивания являются: температура, рН, наличие (отсутствие) кислорода,

Температура контролируется с помощью воды или пара, пропускаемых по трубкам теплообменника. В случае культивирования продуцентов в присутствии кислорода, через среду пропускают воздух, насыщенный кислородом. При анаэробном производстве используются биореактор особой конструкции. Например, пиво варят при низких концентрациях растворенного кислорода, а содержимое ферментера не перемешивается.

Различают следующие типы ферментеров:

- лабораторные (емкостью 0,5—100 л),
- пилотные (емкостью 100 л),
- промышленные емкостью (10—100 л) и более.

По принципу перемешивания культуральной жидкости биореакторы делят на «барботажные», с механическим перемешиванием, эрлифтные реакторы с внутренней или внешней циркуляцией. В биореакторах, оснащённых устройствами для перемешивания, распределение кислорода осуществляется с помощью мешалок, благодаря чему пузырьки поступающего воздуха равномерно разносятся по всему объему реактора.

В промышленных ферментерах могут осуществляться процессы ферментации трех типов:

- периодическая ферментация;
- периодическая ферментация с добавлением субстрата;
- непрерывная ферментация.

В промышленности, как правило, осуществляют ферментацию первого или второго типа, в то время как непрерывная ферментация имеет большое значение для теоретических фундаментальных исследований.

В биореакторах, относящихся к первому типу, перемешивание клеток происходит путем аэрирования воздухом.

Вторая группа биореакторов представляет собой аппараты с применением механических перемешивающих устройств.

Периодическое культивирование — это аналог выращивания клеточных культур в колбах на качалке.

Непрерывное культивирование сопряжено с постоянным добавлением в биореактор свежей питательной среды и непрерывным отбором либо суспензии (открытое проточное культивирование), либо отработанной среды (закрытое проточное культивирование). При этом для микроорганизмов создаются постоянные условия среды. Проточное культивирование конструктивно более сложно и оснащено автоматическим управлением с помощью дополнительных устройств (перистальтических насосов, разделительных устройств).

Независимо от вида целевого продукта и используемых продуцентов биореактор должен обеспечить удобную загрузку субстратов, условия для превращения субстратов, отделение и эффективную очистку продукта [14].

### 3.3. Объекты биотехнологии

Главным звеном биотехнологического процесса является биологический объект, который способен модифицировать исходное сырье с образованием целевого продукта. Объектами биотехнологии являются вирусы; бактерии; грибы (микро- и макромицеты), простейшие, клетки и ткани растений, животных и человека, а также некоторые биогенные и функционально сходные с ними вещества (ферменты, простагландины, лектины и др.). Однако основой большинства биотехнологических производств до настоящего времени остается синтез биологически активных веществ с помощью микроорганизмов (таблица 1).

Таблица 1

Примеры продуцентов

Организм	Тип	Продукт
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Дрожжи	Пекарские дрожжи, вино, эль, саке, этанол
<i>Candida utilis</i>		Микробный белок
<i>Kluyveromyces fragilis</i>		Лактаза
<i>Saccharomycopsis lipolytica</i>		Липаза
<i>Phaffia rhodozyma</i>		Астаксантин
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Бактерии	Йогурт
<i>Propionibacterium shermanii</i>		Швейцарский сыр
<i>Gluconobacterium suboxidans</i>		Уксус
<i>Clostridium acetobutylicum</i>		Ацетон
<i>Xanthomonas campestris</i>		Полисахариды
<i>Corynebacterium glutamicum</i>		L-Лизин
<i>Propionibacterium</i>		Витамин B12
<i>Leocanostoc mesenteroides</i>		Декстран
<i>Xanthomonas campestris</i>		Ксантан
<i>E. coli</i> (рекомбинантные штаммы)		Инсулин, гормон роста, интерферон
<i>Bacillus thuringiensis</i>		Биоинсектициды
<i>Bacillus popilliae</i>		Биоинсектициды
<i>Penicillium roquefortii</i>		Сыры типа рокфора
<i>Aspergillus oryzae</i>		Саке
<i>Aspergillus oryzae</i>		Амилаза
<i>Endothia parasitica</i>	Сычужный фермент	
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Пенициллины	
<i>Chehalosporium acremonium</i>	Цефалоспорины	
<i>Blakeslea trispora</i>	$\beta$ -Каратин	
<i>Rhizopus nigricans</i>	Трансформация стероидов	
Гибридомы	—	Иммуноглобулины и моноклональные антитела
Клеточные линии млекопитающих	—	Интерферон

Классический подход в выборе микроорганизмов заключается в выделении их природных источников. Из естественных мест обитания продуцента отбирают образцы материала и засеивают его в селективную среду, обеспечивающую рост преимущественно данного микроорганизма – это так называемые накопительные культуры.

Далее проводят выделение чистой культуры с дифференциально-диагностическим изучением изолированного микроорганизма и определением его способности продуцировать целевой продукт.

Существует другой путь подбора продуцентов – это выбор микроорганизмов из коллекций хорошо изученных и охарактеризованных микроорганизмов. При таком способе, исключается необходимость выполнения операций по проведению исследований свойств продуцента. Независимо от вида объекта, одним из основных этапов биотехнологического процесса является получение чистых культур организмов, клеток или тканей.

Чистая культура – это популяция, представляющая собой потомство одной или нескольких клеток одного вида микроорганизмов. В настоящее время описано более 100 тысяч различных видов микроорганизмов. Это прокариоты (бактерии, актиномицеты, риккетсии, цианобактерии) и часть эукариот (дрожжи, грибы, простейшие и водоросли).

В биотехнологических процессах применяют ограниченное число микроорганизмов, которые классифицируются как GRAS («generally recognized as safe» и считаются безопасными). К данным микроорганизмам относят бактерии *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, другие виды бацилл и лактобацилл, виды *Streptomyces*. К ним также относят грибы видов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus* и дрожжей *Saccharomyces* и др. GRAS-микроорганизмы – это непатогенные, нетоксичные микроорганизмы, которые не образуют антибиотики, поэтому на них ориентируются, как на базовые объекты биотехнологии.

Применяемые в биотехнологии микроорганизмы подбирают в соответствии со способностью продуцировать целевой продукт. Кроме того, микроорганизмы должны удовлетворять следующим требованиям:

- иметь высокую скорость роста;
- расти на недорогих субстратах;
- быть устойчивыми к заражению посторонней микрофлорой.

Все одноклеточные микроорганизмы обладают высокой скоростью синтеза. Например, корова массой 500 кг за сутки производит 0,5 кг белка. Такое же количество можно получить при культивировании 5 г дрожжей [14].

Первично в микробиологической промышленности использовались микроорганизмы, выделенные из природных источников, а затем, улучшенные с помощью различных методов. В связи с расширением производства и ассортимента выпускаемой продукции осваивается применение новых видов микроорганизмов. Однако это очень длительный процесс поскольку внедрение новых объектов процесс весьма трудоемкий и требует дорогостоящих исследований.

#### 4. ОБЩАЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ СХЕМА ПРОИЗВОДСТВА ПРОДУКТОВ МИКРОБНОГО СИНТЕЗА

Все биотехнологические производства имеют пять основных стадий. На рисунке 6 представлена общая биотехнологическая схема производства продуктов микробиологического синтеза [12].

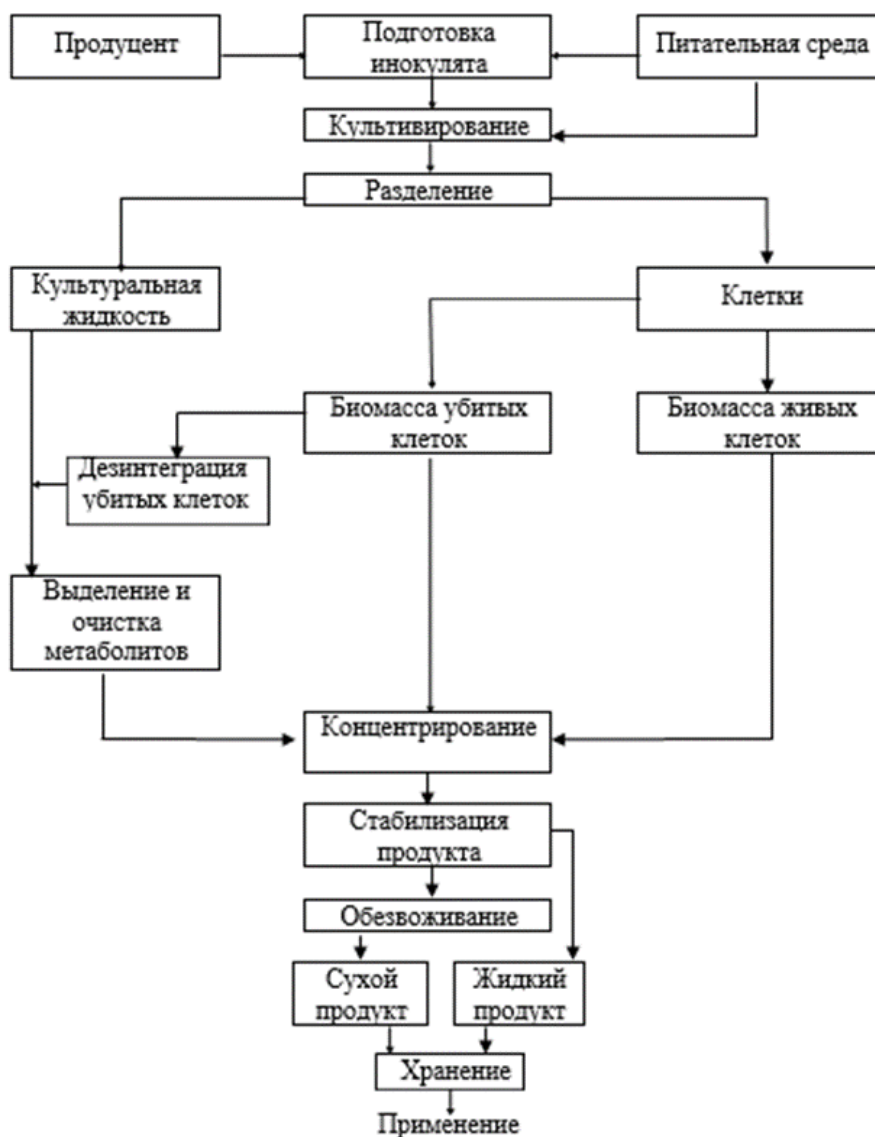


Рис. 6 Биотехнологическая схема производства продуктов микробного синтеза

##### 1) *Получение посевного материала.*

Посевной материал – это чистая культура микроорганизмов-продуцентов, размноженная в лабораторных условиях на специально подобранной питательной среде и при оптимальных условиях выращивания. На предприятия чистые культуры микроорганизмов доставляют в пробирках или в ампулах. Чистая культура микроорганизма может постоянно или по мере необходимости



использоваться в производстве. Вначале культура размножается в лаборатории, а затем передается в цех чистых культур.

В отделении чистой культуры происходит хранение производственных штаммов, их реактивация и накопление инокулята в требуемых количествах. При выращивании инокулята проводят последовательное наращивание биомассы продуцента сначала в колбах, затем в бутылках, далее в серии биореакторов. Приготовленный инокулят по стерильной посевной линии направляется в аппарат для ферментации.

**2) *Приготовление питательной среды*** – включает смешивание компонентов и стерилизацию. Смешивание питательных веществ проводят в аппаратах с мешалкой. Сыпучие компоненты среды предварительно растворяют в воде. Нерастворимые компоненты (мел, соевая и кукурузная мука) переводят в суспензию. Твердые компоненты измельчают. Далее все компоненты смешивают.

Дозирование питательных компонентов осуществляется индивидуально для каждого производства в соответствии с технологическими инструкциями. В качестве дозирующего оборудования применяются весовые и объемные устройства. Транспорт компонентов осуществляется насосами, ленточными и шнековыми транспортерами. Сыпучие компоненты подаются в биореакторы с помощью вакуумных насосов.

Завершающий этап приготовления питательной среды – стерилизация. Наиболее распространена термическая стерилизация. Некоторые питательные среды не требуют стерилизации, поскольку обладают асептическим действием (например, метанол, этанол, уксусная кислота).

**3) *Ферментация*** (культивирование) — это вся совокупность последовательных операций от внесения в заранее подготовленную и стерилизованную питательную среду инокулята (посевого материала) до завершения процессов роста и биосинтеза вследствие истощения питательных веществ среды.

Ферментация может проходить в асептических условиях и без соблюдения правил стерильности; на жидких или твердых средах; анаэробно и аэробно. Аэробная ферментация, также делится на поверхностную или глубинную.

Ферментация может осуществляться в периодическом и непрерывном режимах, полунепрерывно с подпиткой субстратом.

Сущность периодического способа заключается в заполнении биореактора исходной питательной средой и инокулятом микроорганизмов. Далее в аппарате происходит взаимодействие микроорганизмов и субстрата, которое сопровождается образованием целевого продукта.

Биохимические превращения при периодическом способе продолжаются от нескольких часов до нескольких суток. При этом внутри ферментера поддерживаются оптимальные условия для роста культуры микроорганизмов-продуцентов. Микроорганизмы проходят ряд последовательных стадий: лаг-фазу, экспоненциальную, замедления роста, стационарную и отмирания. Целевые продукты образуются в экспоненциальной (первичные метаболиты –

ферменты, аминокислоты, витамины) и стационарной (вторичные метаболиты – антибиотики) фазах. После накопления целевого продукта и истощения питательной среды ферментер опорожняют, производят выделение и очистку продукта. Затем начинается новый цикл.

Непрерывный процесс культивирования осуществляется в условиях установившегося режима. В непрерывных процессах культивирования клетки постоянно поддерживаются в экспоненциальной фазе роста. С этой целью в ферментер непрерывно подается свежая питательная среда и обеспечивается отток из него культуральной жидкости, содержащей клетки и продукты их жизнедеятельности. Основным принципом непрерывных процессов является точное соблюдение равновесия между приростом биомассы и убылью питательных веществ в результате разбавления содержимого свежей средой. Непрерывный способ делят на хеостатный и турбидостатный режимы, а также режим идеального вытеснения (plug-flow).

Хеостатный способ осуществляется в биореакторе называемом хеостат, который характеризуется постоянной скоростью подачи питательных веществ.

Турбидостатный способ проводят в реакторе турбидостат, в котором поддерживается постоянное количество клеток.

В реактор идеального вытеснения (plug-flow) суспензия клеток направленно поступает, а на выходе удерживается и вновь подается на вход.

#### **4) Выделение целевого продукта.**

Продуктами биотехнологического производства могут быть:

1. газы — со стадии ферментации (диоксид углерода — при спиртовом производстве, биогаз — при переработке отходов путем метанового брожения, водород — при культивировании фототрофов).

2. среда ферментации — культуральная жидкость вместе с микроорганизмами (например, кефир, йогурт) или твердый субстрат (например, сыр или ферментированная заквасками колбаса).

3. жидкость (осветленная, надосадочная, нативный раствор, фильтрат, угат, пермеат или супернатант), полученная после отделения биомассы, или ее концентрат. Готовые продукты на этой основе — пиво, вино, квас. Концентрат культуральной жидкости обычно получают выпариванием или высушиванием (например, кормовой лизин или кормовые антибиотики).

4. инактивированная биомасса (например, кормовые дрожжи, которые на завершающих стадиях подвергают тепловой стерилизации).

5. биопрепарат — жизнеспособная биомасса микроорганизмов в жидком или высушенном виде (пекарские дрожжи, бактериальные средства защиты растений, деструкторы нефтяных загрязнений, бактериальные удобрения, силосные закваски и т. п.).

6. ослабленная биомасса микроорганизмов (например, живые вакцины, полученные при обработке клеток патогенных микроорганизмов тепловыми воздействиями или химическими реагентами для снижения их патогенности).

7. внеклеточные и внутриклеточные биопродукты. Могут быть жидкостью (этанол) или твердым веществом (антибиотики, чистые пищевые или

медицинские аминокислоты, лимонная кислота).

8. переработанная биомасса микроорганизмов — гидролизаты и ферментализаты, используемые как источники корма для животных или как вкусовые добавки; клеточные оболочки, получаемые после разрушения микроорганизмов и применяемые как сорбент для очистки соков, вина, пищевых жидкостей.

9. очищенная от загрязнений жидкость (очистка сточных вод) или твердая среда (почва при микробиологической очистке ее от нефтяных загрязнений).

10. жидкая среда (культуральная жидкость) с экстрагированными (выщелоченными) из твердой фазы компонентами (например, бактериальное выщелачивание металлов из руд, микробиологическое обессеривание угля и нефти).

Выбор метода выделения и очистки продукта зависит от того, накапливается продукт в клетках или он выделяется в культуральную жидкость, или же продуктом является сама клеточная масса. Разделение биомассы и культуральной жидкости (сепарация) — осуществляется несколькими методами (флотация, фильтрация, центрифугирование).

Выделение продукта из культуральной жидкости или гомогената разрушенных клеток проводят путем его осаждения, экстракции или адсорбции. Затем выделенный продукт концентрируют ультрафильтрацией, выпариванием или обратным осмосом.

Если целевой продукт содержится в самих *клетках*, то проводят разрушение клеток - дезинтеграцию - физическими, химическими и химико-ферментативными способами.

После стабилизации продукта в зависимости от того, каким должен быть конечный продукт: сухим или жидким, его обезвоживают, упаковывают и отправляют на хранение и далее - потребителю.

### **Вопросы для самопроверки**

1. Перечислите основные стадии биотехнологического производства.
2. Что такое посевной материал?
3. Как готовят посевной материал в производственных условиях?
4. Какие компоненты входят в состав питательных сред?
5. Что такое ферментация?
6. Какими методами осуществляется отделение биомассы от культуральной жидкости?
7. В каком случае необходима дезинтеграция клеток?
8. Какие способы концентрирования продукта Вам известны?

## 5. ПОЛУЧЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ВЕЩЕСТВ С ПОМОЩЬЮ МИКРООРГАНИЗМОВ

### 5.1 Получение пищевых кислот

К пищевым кислотам традиционно относят 4 органические кислоты: лимонную, молочную, уксусную и винную. Некоторые авторы к ним причисляют яблочную и глутаминовую. Лимонную, молочную и уксусную кислоты получают с помощью микроорганизмов. Существует микробиологический способ получения и винной кислоты, однако до сих пор эту кислоту выгоднее получать химическим путем из винного камня.

*Получение лимонной кислоты.*

Впервые выделил D-лимонную кислоту Карл Вильгельм Шееле в 1822 г. Лимонная кислота содержится во многих фруктовых и ягодных соках (клюква, лимон, апельсин, лайм, ананас, гранат). Изучением свойств лимонной кислоты также занимался Ханс Кребс, ему принадлежит открытие роли лимонной кислоты в цикле трикарбоновых кислот (цикл Кребса). Благодаря ему известно, что за сутки в организме человека образуется около 1,5 кг лимонной кислоты, которая затем претерпевает дальнейшие превращения.

В настоящее время основную часть мирового производства составляет лимонная кислота микробного синтеза. Потребности мирового сообщества в лимонной кислоте огромны. Лимонная кислота используется в качестве подкислителя и консервирующего агента в пищевой промышленности, как комплексообразователь в металлургии, средство для смягчения воды при производстве стиральных порошков и для неотложной помощи при отравлениях солями металлов. Объем мирового производства составляет 1,6–1,8 млн т.

Лимонная кислота ( $C_6H_8O_7$ ) – это трехосновная оксикислота. Ранее ее выделяли в виде лимоннокислого кальция из растительного сырья (продукты переработки листьев хлопчатника, стебли махорки, хвоя ели, плоды лимонов). В связи с этим лимонная кислота была дефицитным и дорогим продуктом. В настоящее время лимонная кислота по объему производства является одним из главных продуктов микробного синтеза. Еще в начале двадцатого века рядом исследователей было замечено, что отдельные плесневые грибы продуцируют значительное количество органических кислот. В дальнейшем путем отбора и селекции были выделены главные продуценты органических кислот. В настоящее время с этой целью используют микроскопические грибы родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Ustina*. Главными суперпродуцентами являются штаммы гриба *Aspergillus niger*. Они отличаются большой скоростью роста, простотой культивирования и высоким выходом целевого продукта. Кроме того, штаммы *Aspergillus niger* устойчивы к внешним воздействиям и обладают обильным конидионошением.

Сверхсинтез лимонной кислоты происходит в условиях лимитирования роста продуцентов минеральными компонентами среды и избыточным

содержанием источника углерода. В условиях ограничения роста продуцентов недостатком таких минеральных веществ как железо и марганец после их полного поглощения из среды происходит прекращение роста, однако продолжается потребление из среды углерода. В этом случае в клетках гриба накапливается, а затем выделяется в среду лимонная кислота.

*Получение лимонной кислоты.* Для получения лимонной кислоты в промышленном масштабе применяют твердофазную ферментацию сахаров под действием *A. niger*. Для этого в открытые металлические резервуары, помещают раствор сахаров и споры гриба. Для аэрации и отведения тепла в суспензию пропускают воздух. В специальном цехе выращивают посевной материал – споры (конидий) *Aspergillus niger*. Затем, производят его размножение: сначала в пробирках, затем в колбах и алюминиевых кюветах. Продолжительность каждой стадии – 2-4 суток при 32°C. При выращивании в пробирках применяют твердую агаризованную питательную среду, в колбах и кюветах используют жидкую среду.

Процесс культивирования может осуществляться поверхностным или глубинным способом. На производствах малой или средней мощности применяют поверхностный способ, более крупные предприятия осуществляют глубинную ферментацию.

Поверхностный способ осуществляется в открытых металлических кислотоустойчивых кюветах, где мицелий гриба развивается на поверхности среды. Кюветы располагают на специальных стеллажах в камерах с температурой 34-36 °С. Ферментация протекает при постоянной подаче стерильного кондиционированного воздуха. Цикл выращивания продолжается 8-9 суток.

Глубинный способ заключается в погружении мицелия в питательную среду в башенных биореакторах или реакторах с механическим перемешиванием в стерильных условиях (рисунок 7). Продолжительность культивирования составляет 5-9 суток.

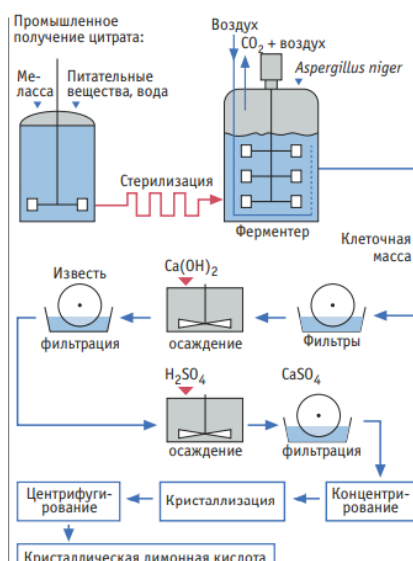
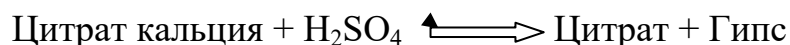


Рис. 7 Промышленное получение лимонной кислоты

По завершению ферментации мицелий отделяется от культуральной жидкости. В случае глубинной ферментации отделение осуществляется фильтрованием на фильтрах, при поверхностном способе сначала сливают жидкость, а затем вручную отделяют мицелий.

Мицелий используется на корм скоту, поэтому его промывают и высушивают. Отфильтрованная культуральная жидкость – это водный раствор лимонной кислоты, в 1 л которого содержится 40-50 г лимонной кислоты.

Из культуральной жидкости лимонная кислота выделяется в виде цитрата кальция. Перевод же лимонной кислоты в свободное состояние осуществляется при добавлении определенного количества  $H_2SO_4$ :



Образовавшийся в результате реакции гипс удаляется фильтрованием. Далее полученный раствор лимонной кислоты осветляют активным углем, выпаривают, отправляют в кристаллизаторы, где постепенно снижают температуру. В результате выделяются кристаллы, которые центрифугируют, промывают водой, высушивают и расфасовывают.

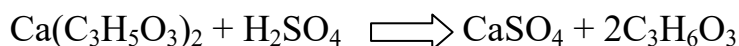
Лимонная кислота широко используется в различных областях пищевой промышленности. В кондитерской промышленности применяется для производства карамели, пастилы, вафель. Также данную пищевую кислоту применяют для производства мороженого, пищевых концентратов, маргарина, колбас, сыра, сгущенного молока с сахаром. Используют для обработки перед холодным хранением свежего мяса, рыбы, обрабатывают фрукты для стабилизации цвета, вкуса и запаха. Применяются соли лимонной кислоты для изготовления косметических средств и бытовой химии.

#### *Получение молочной кислоты.*

Молочная кислота была открыта в 1780 г. шведским химиком Карлом Шееле. Он выделил её из прокисшего молока. Промышленное производство молочной кислоты в Советском Союзе было организовано в 1930 г. Производилась она с помощью молочнокислых бактерий. В настоящее время к продуцентам молочной кислоты относят гомоферментативные молочнокислые бактерии. Применяются штаммы *Lactobacillus delbrueckii* (дельбрюкки) и *L. Vulgaricus*. Они не предъявляют высоких требований к питательной среде и за короткий срок дают высокий выход молочной кислоты.

В качестве питательных сред используют мелассу, молочную сыворотку, глюкозу, мальтозу, сахарозу, лактозу, осахаренный крахмал. Наряду с сахарами питательная среда должна содержать источник азота, фосфаты и витамины группы В. В зависимости от состава питательной среды подбирают наиболее подходящие штаммы. Например, для сбраживания глюкозы или мальтозы применяют штаммы *Lactobacillus delbrueckii*, *L. leichmannii* или *L. bulgaricus*. Для осахаренного крахмала используют смесь молочнокислых бактерий *L. Delbrueckii*, *L. bulgaricus*, *Streptococcus lactis*. На мальтозе выращивают *L. bulgaricus* или *L. casei*.

В промышленных условиях молочную кислоту получают методом анаэробной глубинной ферментации. К питательной среде предъявляются следующие требования: концентрация сахара в среде – 5-20 %, температура 44-50°C, pH 6,3-6,5. Во время ферментации для поддержания pH добавляют мел, а его осадок затем отделяют фильтрацией. Фильтрат выпаривают до концентрации 27-30 %, охлаждают до 25-30°C и выдерживают в кристаллизаторах 36-48 ч. Кристаллы лактата отделяют центрифугированием. Из лактата молочную кислоту получают с помощью серной кислоты. Реакция идет при 60-70°C в соответствии с уравнением:



По окончании ферментации, для выделения соли, среду концентрируют, продукт сушат; в случае же свободной кислоты используют ионообменники для очистки продукта. Конечный продукт представляет собой жидкий концентрат молочной кислоты.

Кислота молочная применяется качестве пищевой добавки в целях регулировки кислотности, а также для создания молочнокислой среды при производстве продукции переработки овощей и плодов, пива, кондитерских изделий, мучных изделий, а также безалкогольных напитков.

#### *Получение уксусной кислоты.*

В качестве пищевой добавки уксус использовался в Европе с античных времен. Применялся он и в классической азиатской кухне.

Традиционно уксус получали из вина. Один из примеров этого – бальзамический уксус, который был изобретён в итальянской провинции Модена и «Aceto Balsamico Tradizionale di Reggio Emilia» (традиционный уксус из провинции Реджо-нель-Эмилия). Во Франции в XVIII в. существовал «стружечный» способ получения уксуса. Он заключался в разведении вина и наполнении им бочек с древесной стружкой, вымоченной в уксусе. Открытие уксуснокислого брожения принадлежит Луи Пастеру, который обнаружил уксуснокислые бактерии. Именно он является основателем технологического метода получения винного уксуса. В настоящее время уксус получают из различного сырья (таблица 2).

Самым распространённым является столовый уксус – это 5-9% раствор уксусной кислоты, полученный путем ферментации ректификата (этанола). Производится уксус концентрации 20-30 %, который получают с помощью вымораживания исходного раствора, 70-80 % (уксусная эссенция), 98,0-99,8 % (ледяная уксусная кислота). Мировое производство уксусной кислоты составляет несколько млрд литров в год. Уксус применяется не только в пищевой промышленности. Так в США используется ацетат кальция-магния как реагент для борьбы с обледенением на дорогах (Cryotech SMATM). Применяют уксус и для растворения органических красителей, при производстве фармацевтических препаратов, пластмасс и т.д.

## Ассортимент уксуса

Наименование	Сырье	Концентрация уксусной кислоты, %
Спиртовой	пищевой этиловый спирт	6, 9, 12
Фруктовый	плодовое сырье	6
Спиртовой с добавлением лимонного настоя, ароматизированный натуральными ароматизаторами	пищевой этиловый спирт, специи, экстракты растений	6
Винный	виноградные виноматериалы	9
Бальзамический	виноградные виноматериалы	10-20
Рисовый	рис, рисовое вино	3-4
Солодовый	пивное солодовое сусло	5-6

Продуцентами уксусной кислоты являются уксуснокислые бактерии рода *Acetobacter*. Эти бактерии растут на сахаристых и спиртовых субстратах при  $pH = 4,0$ . К быстроокисляющим бактериям относят высокопродуктивный штамм *Acetobacter curvum* (курвум). Важно учитывать, что данный штамм может терять свойство образовывать уксусную кислоту, поэтому необходимо его постоянно поддерживают в среде с высокой концентрацией спирта и уксусной кислоты и низкой концентрацией питательных веществ.

В качестве компонентов питательной среды для получения уксуса применяется виноградные виноматериалы, пивное сусло, фруктовые и ягодные соки после спиртового брожения, мед и водный раствор этилового спирта. Кроме спирта питательная среда должна содержать уксусную кислоту и минеральные соли N, P, S, Mn, K. В отдельных случаях вносят витамины в виде различных экстрактов.

Чистые культуры *Acetobacter* культивируют в специальном ферментере. После того как начинается образование кислоты устанавливают повторяющийся цикл: когда происходит снижение концентрации спирта до 0,2%, удаляют половину культуральной жидкости и добавляют свежую питательную среду. Процесс идет при интенсивной аэрации без вспенивания жидкости. Для чего служат специальные мешалки, изобретенные Фрингсом. Тепло, образуемое бактериями, отводится системой охлаждения (рисунок 8). Полученный в ферментаторе раствор уксусной кислоты пропускают через мембранные фильтры, пастеризуют и доводят до концентрации столового уксуса. При применении специальных штаммов и регулировании условий ферментации образуется 17,5%-й уксус, более концентрированный уксус получают в результате двухступенчатой ферментации.

Уксусная кислота стала первым микробиологическим продуктом, полученным с помощью иммобилизованных клеток. Этот способ может быть непрерывным и периодическим. Адсорбирование уксуснокислых бактерий производят на древесной стружке, древесном угле, коксе и других субстратах. Пропуская раствор этанола через генераторы с иммобилизованными



бактериями, получают 10-15 %-ный раствор уксусной кислоты. Из 100 л безводного спирта теоретически должно быть получено 103 л уксусной кислоты. На практике выход уксуса из 100 л этанола редко превышает 90 л, что связано с переокислением и неполным окислением этанола бактериями, а также с его испарением [15].

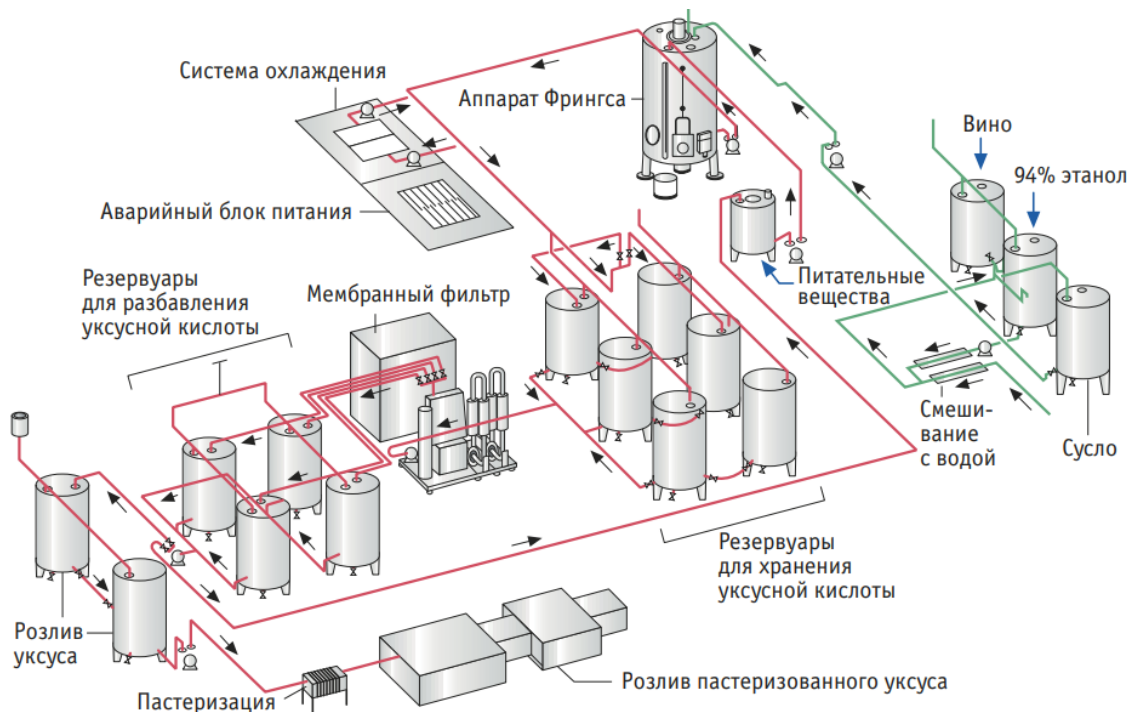


Рис. 8 Технология получения уксуса

Уксус, полученный путем брожения, имеет приятные аромат и вкус, которые дают такие побочные продукты брожения как сложные эфиры (этилацетат и другие), высшие спирты и органические кислоты.

## 5.2 Аминокислоты

### 5.2.1 Общие сведения об аминокислотах

Аминокислоты являются структурными элементами, из которых построены белки. По своей химической природе аминокислоты – это гетерофункциональные соединения, в молекулах которых присутствуют основная аминогруппа ( $-\text{NH}_2$ ), кислая карбоксильная группа ( $-\text{COOH}$ ) и R (радикал) (рисунок 9).

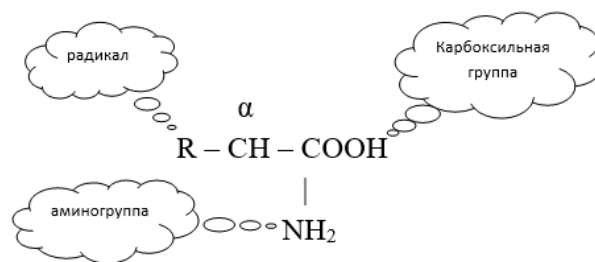


Рис. 9 Структура аминокислоты

Аминокислоты могут содержать различное число функциональных групп: моноаминомонокарбоновые, диаминомонокарбоновые, моноаминодикарбоновые и т.д. Природные аминокислоты являются диаминокислотами или α-аминокислотами. У α-аминокислот аминогруппа –NH<sub>2</sub> присоединена к атому С2 – α-углероду (счет углеродных атомов начинается с атома карбоксильной группы –COOH).

Аминокислоты имеют тривиальное название и условное сокращенное обозначение. Все стандартные аминокислоты, кроме глицина, оптически активны. Они способны вращать плоскость поляризованного луча света и существовать в виде пары зеркальных энантиомеров D и L. Конфигурацию молекулы аминокислоты обозначают заглавными буквами D и L, если аминогруппа расположена справа от оси COOH–R – это соответствует D-аминокислоте, слева – L-аминокислоте.

Аминокислоты различаются радикалами R. По строению радикалов и по полярности боковых цепей аминокислоты можно разделить на следующие классы (приложение А):

- алифатические (глицин, аланин, валин, лейцин, изолейцин) – эти аминокислоты не имеют в радикале атомов N, O или S и характеризуются низкой полярностью;
- серосодержащие (цистеин, метионин) – содержат атомы серы и участвуют в образовании дисульфидных мостиков;
- ароматические (фенилаланин, тирозин, триптофан) – содержат мезомерные циклы и характеризуются заметной полярностью;
- иминокислоты (пролин) – состоит из пятичленного цикла, образованного α-углеродным атомом и аминогруппой, что придает пролину способность образовывать изгибы полипептидной цепи в структуре белка коллагена;
- нейтральные (серин, треонин, аспарагин, глутамин) – содержат карбоксильные и карбоксамидные группы;
- кислые (аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота) – полностью ионизированы;
- основные (гистидин, лизин, аргинин) – полностью протонированы в нейтральной области pH.

К настоящему времени описано примерно 200 природных аминокислот. Все природные аминокислоты делят на две группы: протеиногенные (белковые), непотеиногенные (в белках не обнаружены).

Растения могут синтезировать все аминокислоты, а организме человека не все аминокислоты синтезируются и некоторые должны обязательно поступать с пищей. Эти аминокислоты называются *незаменимые*. Всего выделяют 8 *незаменимых аминокислот*: валин, лейцин, изолейцин, лизин, метионин, треонин, триптофан, фенилаланин. Недостаток в пище данных аминокислот приводит к нарушению процессов роста, биосинтеза белков и как следствие развиваются заболевания.

### 5.2.2 Получение аминокислот

Аминокислоты получают в промышленных масштабах примерно 50 лет. После того как было изучена их роль в обмене веществ они применяются в медицине, например для приготовления инфузионных растворов, другие (L-метионин, L-лизин и L-треонин) – в качестве кормовых добавок для скота. Большой вклад в развитие производства аминокислот внесло открытие способности L-глутамата усиливать вкус пищевых продуктов, а у дипептида аспартама выраженного сладкого вкуса. Кроме этого, аминокислоты нашли применение в синтетической химии, например, при производстве полусинтетических антибиотиков.

Существует четыре промышленных способа получения аминокислот:

- 1) экстракция из гидролизата белка;
- 2) химический синтез;
- 3) биотрансформация соединений-предшественников в ферментере или клеточном реакторе;
- 4) микробная ферментация.

Экстракцией из гидролизата белка получают L-цистеин, L-цистин, L-лейцин, L-аспарагин, L-аргинин и L-тирозин.

В этом случае сырьем являются растительные белки или отходы мясной промышленности, которые необходимо подвергать кислотному гидролизу, после чего методом кристаллизации или экстракции спиртом производят отделение гидрофобных аминокислот L-фенилаланин, L-лейцин и L-изолейцин. Далее разделяют растворимые аминокислоты на фракции, которые перекристаллизовывают и подвергают хроматографической очистке. Химический синтез аминокислот проводят с образованием рацемата (смесь L- и D-изомеров аминокислот), который применяется в качестве кормовой добавки, или добавляют во фруктовые соки для смягчения вкуса. Для разделения рацематов аминокислот на L- и D-изомеры в молекулу аминокислоты вводят еще один хиральный центр при C $\alpha$ -атоме. Данные процессы осуществляют в ферментере или клеточном реакторе. Биокатализатором служат очищенные ферменты или целые клетки, содержащие нужный фермент.

Химический синтез, благодаря невысоким затратам, получил широкое распространение. Кроме производства аминокислот химическим путем практически всех протеиногенных аминокислот разработаны методы ферментации, и выделены соответствующие штаммы. Во многих случаях именно ферментативный способ является экономически оправданным, поскольку микроорганизмы синтезируют только L-форму. Это значительно упрощает выделение и очистку аминокислот и позволяет получать препараты с низкой себестоимостью.

При ферментации аминокислоты, не накапливаются в клетках микроорганизмов, а постоянно выделяются в питательную среду. В связи с этим аминокислоты выделяют из фильтрата культуральной жидкости.

Первой аминокислотой, полученной микробным синтезом, была глутаминовая. В 1908 г. ученые из Японии установили, что L-глутаминовая кислота, находящаяся в водорослях *Konbu*, может усиливать вкус продуктов питания. Изначально в промышленных масштабах L-глутаминовую кислоту получали из кислотного гидролизата клейковины пшеницы и соевого белка.

В 1957 г. сотрудником фирмы Киова Хакко было обнаружено, что при выращивании *Corynebacterium glutamicum* в сахаросодержащей среде происходит накопление L-глутаминовой кислоты. В настоящее время продуцентами данной аминокислоты являются бактерии *Corinebacterium glutamicum* и *Brevibacterium flavum*. При их выращивании необходимо соблюдать условия сверхсинтеза. Когда *Corinebacterium glutamicum* растет в среде с меньшей, чем оптимальная, концентрацией витамина H нарушается синтез мембранных фосфолипидов, а глутамат натрия накапливается в культуральной жидкости. Такое же явление наблюдается при добавлении в питательную среду пенициллина: этот антибиотик, подавляет синтез клеточной стенки и способствует выделению аминокислоты. В основном L-глутамат используется в пищевой промышленности как усилитель вкуса, наиболее часто применяется в сочетании с нуклеозидами

Лизин продуцируют разнообразные микроорганизмы: бактерии, актиномицеты, сине-зеленые водоросли, некоторые виды микроскопических грибов. В России в качестве продуцентов лизина используют бактерии родов *Corinebacterium* (*C. glutamicum*), *Micrococcus*, *Brevibacterium*. Питательной средой для них служит меласса или уксусная кислота.

Триптофан синтезируют следующие микроорганизмы: *Aerobacter*, *Bacillus*, *Escherichia* (*E. coli*), *Saccharomyces* (*S. cerevisiae*), *Candida*. Наиболее часто в качестве продуцентов используются представители рода *Micrococcus*, *Candida utilis*, *Bacillus subtilis*.

Главными потребителями аминокислот являются сельское хозяйство и пищевая промышленность. Они применяются в качестве обогатителя кормов и пищевых продуктов растительного происхождения для повышения их питательной ценности и для сбалансирования пищи по незаменимым аминокислотам.

Некоторые аминокислоты используют в качестве приправ, так как они обладают определенными вкусовыми свойствами и могут сообщать продукту приятные аромат и вкус (например, глутамат натрия).

Многие аминокислоты обладают оригинальным вкусом и участвуют в образовании вкусовых особенностей пищевых продуктов. Например, аспарагиновая и глутаминовая кислоты, придают продуктам кислый вкус. Глицин обладает характерным вкусом «освежающей» сладости, которая по интенсивности близка к сахарозе.

К продуктам синтеза аминокислот относится и подсластитель аспартам. Его молекула состоит из 2 аминокислот – фенилаланина и аспарагиновой кислоты. Эти аминокислоты синтезируются с помощью микробного синтеза, а аспартам из этих мономеров – с помощью ферментов.

Для улучшения органолептических показателей мясных продуктов, придания им специфического приятного вкуса и аромата используют цистин, лизин, гистидин. Цистеин и цистин совместно с глутаматом натрия создают имитацию запаха и вкуса мяса, что используется при приготовлении приправ. Цистеин применяется для создания пористой структуры хлеба.

При температуре 100-120°C и сильнощелочной реакции некоторые аминокислоты взаимодействуют с сахарами и образуют пищевые красители, которые обладают антиокислительным действием.

Таким образом, аминокислоты нашли широкое применение во многих отраслях пищевой промышленности, увеличивая питательную ценность пищевых продуктов, участвуя в регуляции органолептических показателей и повышая стабильность пищевых продуктов при длительном хранении.

## 5.3. Белки

### 5.3.1. Общие сведения о белках

Белки или протеины — это высокомолекулярные органические вещества, построенные из остатков аминокислот. Аминокислоты в белках связаны пептидными связями, которые образованы при взаимодействии  $\alpha$ -карбоксовых и  $\alpha$ -аминогрупп аминокислот.

Две аминокислоты, связанные пептидной связью, представляют собой дипептид. К дипептиду могут присоединяться другие аминокислоты, в результате образуются три-, тетра-, пентапептиды и так далее вплоть до образования полипептида. Последовательность расположения аминокислот в полипептиде представляет собой первичную структуру белка.

Всего существует четыре уровня структурной организации белка — *первичная, вторичная, третичная и четвертичная* структура (рисунок 9).

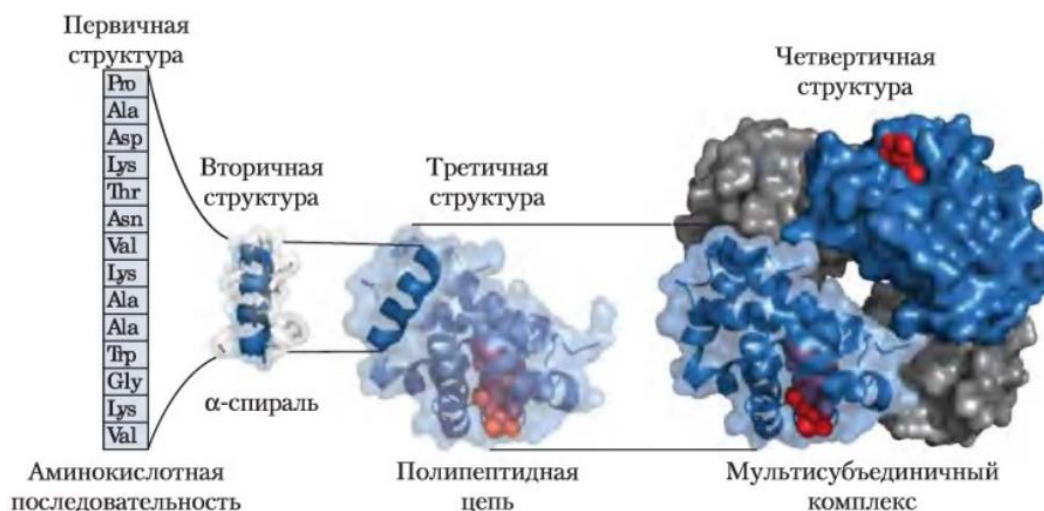


Рис. 9 Структуры белка

*Первичная структура белка* — это последовательность аминокислотных остатков в полипептиде. Некоторые белки представлены не одной, а несколькими полипептидными цепями, связанными между собой.

Первичная структура белка имеет ряд особенностей:

1. это уникальная последовательность аминокислот.
2. стабильность, что обеспечивается дипептидными и дисульфидными связями.
3. число комбинаций аминокислот в полипептиде велико, повторения последовательности аминокислот редки.
4. первичная структура белка определяет вторичную, третичную и четвертичную структуру белковой молекулы.

*Вторичная структура белка* — конфигурация полипептидной цепи, в виде ее компактной упаковки. Вторичная структура определяется первичной структурой белка. Выделяют две основных конфигурации полипептидной цепи:  $\alpha$ -спираль и  $\beta$ -сладчатый слой.  $\alpha$ - и  $\beta$ -структуры формируются в результате образовывания водородных связей между аминокислотами.

Структура  $\alpha$ -спирали характеризуется следующими закономерностями:

- шаг спирали состоит из 3,6 аминокислотных остатков;
- угол подъема спирали  $26^\circ$ ;
- через каждые пять витков структурная конформация полипептида повторяется.

При образовании  $\beta$ -структуры две или более линейные полипептидные цепи, расположены параллельно либо антипараллельно и связаны между собой водородными связями.

В природе встречаются белки, вторичная структура которых не относится ни  $\alpha$ -, ни  $\beta$ -структуре, к примеру коллаген.

*Третичная структура белка* — это пространственная ориентация полипептидной спирали, способ компоновки белковой молекулы.

Большую роль в образовании третичной структуры играют нековалентные связи, водородные связи, электростатические взаимодействия заряженных

групп, вандерваальсовы силы, взаимодействия неполярных боковых радикалов аминокислот, гидрофильно-гидрофобные взаимодействия.

Основной вклад в образование третичной структуры вносят нековалентные связи. Третичная структура белка формируется самопроизвольно, в результате взаимодействия радикалов аминокислот с молекулами воды. При этом гидрофобные радикалы ориентируются внутрь молекулы белка, а гидрофильные радикалы ориентируются наружу. В результате образуются такие конформации — Т-форма (tensed — «напряженная») и R-форма (relaxed — «расслабленная»). Трехмерная структура белка определяет функциональную активность белка и его биологические свойства. При разрушении третичной структуры происходит потеря его биологических свойств.

*Четвертичная структура белка* — пространственная ориентация сразу нескольких полипептидных цепей, с образованием макромолекулярной структуры. Отдельные полипептидные цепи — субъединицы в результате пространственного объединения формируют олигомер. Стабилизация четвертичной структуры осуществляется за счет нековалентных связей между комплементарными участками субъединиц.

Каждый белок имеет название, которое может быть присвоено по различным признакам. Например, по латинскому названию источника, из которого выделен белок, химическому составу белка, функции. В частности, название авидин — белок яиц — происходит от латинского слова avis — птица; а оризин (белок риса) — от oryza (рис). Особенности химического состава и функций лежат в основе названий таких белков как ферритин и трансферрин.

В настоящее время известно около  $10^{10}$ - $10^{12}$  видов белков, что, несомненно, требует их систематизации. Классификация белков основывается на нескольких различиях, а именно: в форме молекул белков, различие в функциях, различие в структуре, различие в химическом составе.

В зависимости от формы молекул белки подразделяются на глобулярные (шаровидные) и фибриллярные (нитевидные).

В зависимости от выполняемых функций выделяют 12 классов белков:

- 1) каталитически активные белки (ферменты);
- 2) белки — ингибиторы ферментов;
- 3) белки — регуляторы активности генома;
- 4) защитные белки (иммунные белки и белки свертывающей системы);
- 5) токсические белки;
- 6) транспортные белки;
- 7) мембранные белки;
- 8) сократительные белки;
- 9) рецепторные белки;
- 10) белки-гормоны;
- 11) белки — оболочки вирусов;
- 12) белки с другими функциями.

В зависимости от вида вторичной и третичной структуры выделяют:

- 1)  $\alpha$ -белки (содержат не менее 60%  $\alpha$ -спирали);

- 2)  $\beta$ -белки (содержат только  $\beta$ -структуры);
- 3)  $\alpha + \beta$ -белки (содержат оба типа структуры);
- 4)  $\alpha / \beta$ -белки (содержат множество структур обоих видов, чередующихся в пределах одной полипептидной цепи).

В зависимости от химического состава белки делят на:

- 1) простые белки (состоят только из остатков аминокислот) — протамины, гистоны, альбумины, глобулины, проламины, глютелины;
- 2) сложные белки (состоят из белка и протетической группы) — фосфо-, хромо-, нуклео-, глико-, липо- и металлопротеины.

### 5.3.2. Получение белков

Одной из глобальных продовольственных проблем XXI века является дефицит белковой пищи. К настоящему моменту население нашей планеты составляет 7,93 миллиарда человек и как ожидается, к 2050 году увеличится до 9,7 миллиардов человек. Для обеспечения населения планеты полноценным белковым питанием существующих источников недостаточно, требуется разработка новых технологий получения белка. Развитие биотехнологии привело к разработкам крупномасштабного культивирования микроорганизмов в качестве источника пищевого белка для человека и сельскохозяйственных животных (белок одноклеточных организмов – БОО). Кроме того, еще во время Второй мировой войны в Германии была разработана технология получения жиров из одноклеточных организмов.

В период с 1965 по 1975 гг. повышенный интерес привлекали проекты по применению нефтяных фракций в качестве источника углерода для роста дрожжей *Candida tropicalis*, *S. bombicola*. Начиная с 1972 г. стали применяться процессы ферментации метанола с помощью различных метилотрофных микроорганизмов (например, *Hansenula polymorpha*, *Pichia pastoris*, *Candida boidinii*, *Methylophilus methylotrophus*, *Methylomonas clara*). В результате окисления метанола образуется муравьиная кислота и формальдегид, которые поступают в пентозофосфатный цикл.

Данные открытия стали широко применяться. Например, такие крупные фабрики как «Бритиш петролеум» (Сардиния) и Грэнджмаусе (Шотландия) активно применяли технологию переработки алканов дрожжами. Для этого были использованы ферментеры с мешалками и пеноотделителями. Ферментации осуществлялась в непрерывном режиме. В результате, за 5 суток из 1 кг нефти получали 0,9 кг клеточной массы дрожжей *Candida tropicalis*. По окончании ферментации клетки дрожжей отделялись в сепараторах, а высокое содержание РНК (4%) уменьшали путем осторожного аутолиза. Далее дрожжи сушили в кипящем слое и получали твердый продукт в виде песчинок.

Дрожжи также способны использовать в качестве субстрата метанол. Так, например, в ферментерах, произведенных фирмой ICI метанол впрыскивается через 600 отверстий, в результате происходит равномерное распределение метанола по всему объему биореактора. Процесс протекает при хорошей



аэрации. В качестве продуцентов используются бактерии *Methylophilus methylotrophus*, которые за 2 суток производят 0,5 кг биомассы из 1 кг метанола. По окончании ферментации клетки дрожжей отделяются с помощью сепаратора, а примеси РНК удаляют автолизом. Затем белковый продукт сушат и получают готовый к реализации продукт.

Распространение информации о возможности использования продуктов переработки алканов в пищу, вызвала негативную реакцию со стороны общественности из-за опасности попадания в пищевые продукты канцерогенов из нефти. Все же в 1974 г. было получено разрешение на использование продуктов переработки метанола в качестве кормовых добавок для скота. Поступление на рынок белка для корма скота, полученного метанол-перерабатывающими дрожжами почти, не встретило возражений в обществе. Однако в связи с подорожанием нефти в странах ЕС в качестве источника белка предпочтительным остается использование продуктов переработки молока.

## 5.4. Липиды

### 5.4.1. Общие сведения о липидах

Липиды — это группа природных органических соединений, характеризующихся нерастворимостью в воде и растворимостью в неполярных растворителях (эфире, хлороформе и бензоле), содержащих высшие алкильные радикалы.

Липиды выполняют важные роли в организме: входят в состав клеточных мембран и влияют на их проницаемость, участвуют в контактах между клетками и передаче нервного импульса, являются источниками энергии, содержат жирорастворимые витамины и незаменимые жирные кислоты, создают термоизоляционные покровы животных.

В основе классификации липидов положены их структурные особенности. Липиды делят на омыляемые и неомыляемые. Омыляемые липиды легко гидролизуются в воде под действием щелочей или ферментов. К ним относят сложные эфиры, фосфо- и гликолипиды. Неомыляемыми липидами являются холестерин и его производные (стероидные гормоны, желчные кислоты, витамины).

В зависимости от особенностей структуры липиды подразделяют на:

1. простые липиды — это сложные эфиры жирных кислот и спиртов, которые подразделяется на:

- глицериды — сложные эфиры трехатомного спирта глицерина и высших жирных кислот;

- воски — сложные эфиры высших жирных кислот и одно- или двухатомных спиртов.

2. сложные липиды — сложные эфиры жирных кислот и спиртов, содержащие дополнительные группы, такие как остатки фосфорной кислоты

(фосфолипиды), олигосахариды (гликолипиды), карбоксильные, гидроксильные и карбонильные группы (стероиды).

3. предшественники и производные липидов — жирные кислоты, глицерол, стеролы и другие спирты, альдегиды жирных кислот, углеводороды, жирорастворимые витамины и гормоны.

Жирные кислоты — алифатические карбоновые кислоты. Они могут находиться в организме в свободном состоянии либо входить в состав липидов. Жирные кислоты с числом углеродных атомов больше 12 называют высшими жирными кислотами.

В тканях человека и животных присутствует около 70 разных жирных кислот, но физиологическое значение имеют не более 20 (таблица 3). Из них преобладают кислоты, имеющие 16 и 18 углеродных атомов. Около 3/4 всех жирных кислот являются непредельными (ненасыщенными), то есть содержат двойные связи.

Таблица 3

### Жирные кислоты

Тривиальное название кислоты	Число атомов углерода	Число двойных связей	Положение двойных связей	Незаменимые кислоты
Лауриновая	$C_{11}H_{23}COOH$	0		
Миристиновая	$C_{13}H_{27}COOH$	0		
Пальмитиновая	$C_{15}H_{31}COOH$	0		
Стеариновая	$C_{17}H_{35}COOH$	0		
Олеиновая	$C_{17}H_{33}COOH$	1	9	
Линолевая	$C_{17}H_{31}COOH$	2	9,12	+
Линоленовая	$C_{17}H_{29}COOH$	3	9,12,15	+
Арахидоновая	$C_{19}H_{31}COOH$	4	5,8,11,14	+
Бегеновая	$C_{21}H_{43}COOH$	0		
Эруковая	$C_{21}H_{41}COOH$	1	13	

В организме человека не синтезируется линолевая, линоленовая и арахидоновая кислоты. Они должны поступать в организм с пищей. Комплекс этих кислот называют витамином F.

### 5.4.2. Получение липидов

С помощью микроорганизмов возможно получать липиды. Микроорганизмы накапливают липиды внутри клетки в виде запасных гранул. Требования при отборе продуцентов липидов те же, что и для продуцентов белка, однако в отличие от них продуцентам липидов требуются асептические условия при выращивании.

Существует два направления производства липидов с помощью микроорганизмов:

- специализированное производство, основанное на направленном биосинтезе липидов микробной клеткой,
- получение микробного жира в виде отхода при производстве кормовых дрожжей.

В качестве продуцентов липидов используются дрожжи родов *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Lypomyces*, *Candida*. Наибольшей продуктивностью обладают: *Cryptococcus terricolus*, *Rhodotorula gracilis*, *R. glutinis*, *Lypomyces starkeyi*, *L. lipoferus* и др.

Для данных микроорганизмов важно минимизировать азотистое питание. Только в этом случае они накапливают значительные количества липидов. Состав липидной фракции варьируется в зависимости от используемого источника углерода и обычно включает фосфолипиды, стерины, свободные жирные кислоты, моно-, ди- и триглицериды, стериновые эфиры и воски. Из клеток липиды извлекают экстракцией, а саму биомассу используют как белковую добавку для кормления животных.

В качестве источников липидов может быть использована и биомасса дрожжей (например *Candida*), липиды из которой извлекают экстракцией.

В качестве субстрата для выращивания дрожжей может быть использовано сырье с повышенными концентрациями парафинов или дизельное топливо. В этом случае в биомассе дрожжей накапливается значительное количество липидов, которые являются нежелательным компонентом в готовом продукте. Поэтому липиды из кормовых дрожжей удаляют экстракцией, сами дрожжи высушивают, а освобожденные жиры направляют на переработку.

Таким образом, основная масса микробных жиров используется на технические цели, что дает значительный экономический эффект.

## 5.5. Витамины

### 5.5.1 Общие сведения о витаминах

Витамины — это низкомолекулярные органические соединения, различной химической природы, имеющие ряд общих свойств:

- не образуются в организме человека или образуются в недостаточных количествах,
- не являются источниками энергии и не служат пластическим материалом для построения клеток и тканей;
- самостоятельно или в составе ферментов регулируют и катализируют обмен веществ;
- биологически активны в очень малых количествах — суточная потребность в них выражается в мг или мкг;
- при недостатке или отсутствии витаминов возникают специфические симптомы и заболевания.

Академик Н.Д. Зелинский считал, что витамины регулируют обмен веществ не непосредственно, а опосредованно, через ферменты, составной

частью которых они являются. В составе ферментов витамины обеспечивают реакции превращения белков, жиров, углеводов.

К настоящему времени известно более 20 витаминов.

По растворимости в воде и жире витамины классифицируют на *водо- и жирорастворимые*.

К водорастворимым относят: витамин С (аскорбиновая кислота), В<sub>1</sub> (тиамин), В<sub>2</sub> (рибофлавин), В<sub>6</sub> (пиридоксин), РР (ниацин, никотиновая кислота), В<sub>12</sub> (кобаламин), В<sub>9</sub> (фолацин, фолиевая кислота), В<sub>3</sub> (пантотеновая кислота), Н (биотин).

Жирорастворимые витамины: витамин А (ретинол), D (кальциферолы), Е (токоферолы), К (филлохинон, менахинон).

По функциональной роли и механизму действия витамины условно разделяются на три группы:

1. энзимовитамины — витамины, функционирующие в качестве коферментов или простетических групп ферментов;

2. витамины-прогормоны — это витамины, активные формы которых обладают гормональной активностью;

3. витамины-антиоксиданты — они входят в систему антиоксидантной защиты организма от повреждающего действия активных, свободно радикальных форм кислорода.

По вызываемому эффекту и характеру физиологического действия на организм витамины могут быть дополнительно разделены на группы:

- повышающие общую резистентность организма — А, С, В<sub>1</sub> В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, РР, D (регулируют функциональное состояние ЦНС, обмен веществ и питание тканей);

- антигеморрагические — С, Р, К (обеспечивают нормальную проницаемость и резистентность кровеносных сосудов, повышают свертываемость крови);

- антианемические — В<sub>12</sub>, С, В<sub>9</sub> (нормализуют и стимулируют кроветворение);

- антиинфекционные — А, С, группа В (повышают устойчивость организма к инфекциям, стимулируют выработку антител, усиливают фагоцитоз, стимулируют защитные свойства эпителия, нейтрализуют токсины возбудителей);

- регулирующие зрение — А, В<sub>2</sub>, С (обеспечивают адаптацию глаз к темноте, усиливают остроту зрения, расширяют поле цветового зрения);

- антиоксиданты — С, Е (защищают структурные липиды от окисления).

### **5.5.2 Получение витаминов**

Витамины широко применяются в качестве лекарственных препаратов и пищевых добавок, а также как кормовые добавки животным. Основную массу витаминов получают с помощью химического синтеза или экстракции из растительного сырья. Микробным синтезом производят витамины В<sub>2</sub>, В<sub>12</sub>, С, D

и каротиноиды.

Витамин В<sub>2</sub> (рибофлавин). Рибофлавин в виде ФМН/ФАД – кофермент в окислительно-восстановительных процессах. Недостаток витамина В<sub>2</sub> в пище приводит к кожным патологиям, нарушению роста и глазным заболеваниям.

В небольших количествах В<sub>2</sub> можно получать из растительного и животного сырья. Он содержится в моркови и печени трески. Из 1 т моркови получают 1 г витамина, из 1 т печени – 6 г. Существует три промышленных способа получения данного витамина: химический синтез, ферментация и химико-ферментативный метод. В настоящее время по экологическим и экономическим соображениям наиболее распространён ферментативный способ. В качестве продуцентов используют *Ashbya gossypii*. Основу субстрата для выращивания составляет меласса, а в качестве источника азота вносят соевую муку. По окончании процесса культивирования клетки удаляют, а продукт очищают с помощью хроматографии.

При использовании комбинированного - химико-ферментативного метода аллоксазиновое кольцо синтезируют химическим способом, соединяют его с остатком D-рибозы, которую получают из D-глюкозы в клетках мутантных штаммов *Bacillus pumilus*. Однако широкого распространения данный метод пока не получил.

Витамин В<sub>12</sub> (цианкобаламин). В качестве кофермента производное витамина В<sub>12</sub> (5'-дезоксаденозилкобаламин) принимает участие в реакциях метилирования и изомеризации. В природе В<sub>12</sub> синтезируется только микроорганизмами и является необходимым компонентом пищи человека и большинства животных. Молекула витамина В<sub>12</sub> состоит из 2-х частей: кобальтосодержащей и нуклеотидной.

Производство витамина В<sub>12</sub> осуществляется ферментацией. Основными продуцентами являются *Propionibacterium shermanii* или *Pseudomonas denitrificans*. В качестве сырья для питательных сред используют мелассу и аммонийные соли, также добавляют соли кобальта и 5,6-диметилбензимидазол. Готовый продукт представляет собой однородный порошок коричневого цвета, кисловатый на вкус, с характерным запахом.

Каротиноиды – это предшественники витамина А, среди которых наибольшее значение имеет β-каротин. В печени каротин превращается в витамин А. Поскольку в организме человека каротиноиды не синтезируются, они должны поступать с пищей. В качестве продуцентов каротиноидов используют грибы и дрожжи. В промышленных масштабах β-каротин получают с помощью микроскопического гриба рода *Blakeslea*. Для культивирования используют поверхностный или глубинный способ. Во время выращивания требуется интенсивная аэрация среды. Синтез каротиноидов начинается, когда в среде использован весь азот, а рост культуры снижается.

β-каротин широко используют при пищевой промышленности как пищевая добавка. Применяют его при изготовлении колбас с целью замены нитрита натрия и обеспечения высокой интенсивности и устойчивости цвета. Используют в кондитерской промышленности. Например, при производстве

конфет и мучных кондитерских изделий. Кроме того, в некоторых странах,  $\beta$ -каротин разрешен к использованию при производстве сливочного масла и макаронных изделий. Одновременно с этим,  $\beta$ -каротин имеет антиокислительные свойства и способствует увеличению сроков годности продуктов.

На основе вышеизложенного можно сделать вывод, что витамины, полученные ферментацией, применяются не только в качестве лекарственных препаратов, они нашли широкое применение как пищевые добавки при производстве продуктов питания.

## 5.6. Получение этилового спирта

Этиловый спирт – это органическое соединение, относящееся к классу одноатомных спиртов. При стандартных условиях этанол – бесцветная прозрачная жидкость с характерным запахом и вкусом.

Этанол используется в качестве сырья в пищевой, химической промышленности, как растворитель, а также как топливо.

В настоящее время более двух третей всего этанола, произведенного в мире, получают с помощью дрожжей и бактерий. Главными продуцентами этанола являются пекарские дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. Так при гликолизе 1 моль D-глюкозы образуется 2 моль этанола. Бактерии *Zygomonas mobilis*, образуют этанол по кетодезоксифосфоглюконатном пути. *Saccharomyces cerevisiae* не имеет ферментов для расщепления полисахаридов, поэтому в питательную среду необходимо добавлять углеводы, предварительно расщепленные до моносахаридов. Существует другой биотехнологический метод, который основан на применении рекомбинантных штаммов-суперпродуцентов, которые в результате клонирования новых генов приобрели способность перерабатывать такие виды сырья, как крахмал, целлюлоза или гемицеллюлоза [5].

Промышленная технология производства этанола основана на процессах брожения, которые осуществляются в специальных биореакторах периодическим способом. Ферментация продолжается 14–20 ч., а затем процесс замедляется в результате подавления роста клеток дрожжей катаболитами. Другой причиной замедления роста дрожжей является высокая концентрация этанола, поэтому этанол необходимо непрерывно удалять. При этом получают 95%-й этанол, который используется в качестве топлива. Абсолютный (100%) этанол получают после дистилляции и фильтрации.

В настоящее время в мире насчитывается более 700 крупных фирм, производящих этанол путем микробного синтеза. В качестве сырья используется меласса из сахарной свеклы (Бразилия) или кукурузный крахмал (США).

### **Вопросы для самопроверки**

1. Какие микроорганизмы используются в качестве продуцентов аминокислот?
2. Назовите способы получения витаминов.
3. Какое сырье используется в качестве питательных сред при производстве этанола?
4. Где применяются жиры, полученных с помощью микроорганизмов?
5. Какие кислоты называют пищевыми?
6. Назовите этапы получения лимонной кислоты?
7. При производстве каких пищевых продуктов используются пищевые кислоты?
8. Какие требования предъявляют к продуцентам белков и жиров?
9. Как применяются соли глютаминовой кислоты в пищевой промышленности?

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Согласно ГОСТ Р 57095—2016 биотехнология (biotechnology) – это применение науки и технологии к живым организмам, как к областям, продуктам и моделям, с целью преобразовать живые или неживые материалы для производства знания, продукции или услуг, соответственно [7].

Современные биотехнологии развивается высокими темпами и человечество возлагает большие надежды на биотехнологию в решении глобальных проблем.

Посредством биотехнологий получают новые средства для диагностики, вакцины, продукты питания, лекарства. Биотехнология способствует увеличению урожайности сельскохозяйственных культур, что более чем актуально, принимая во внимание рост численности населения нашей планеты.

Во многих странах, где значительные объемы биомассы не используются полностью, биотехнология в будущем превратит их в ценные продукты или в биологические виды топлива.

Биотехнология все больше перестает быть прикладной наукой, она активно входит в обычную жизнь людей, помогая решать насущные проблемы современного человечества.



## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Антипова, Л. В. Биотехнология пищи: физические методы : учебное пособие для вузов / Л. В. Антипова, С. С. Антипов, С. А. Титов. — Москва : Издательство Юрайт, 2022. — 210 с. — (Высшее образование). — ISBN 978-5-534-13162-8. — Текст : электронный // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. — URL: <https://urait.ru/bcode/496227> (дата обращения: 03.11.2022).
2. Антипова, Л. В. Основы биотехнологии переработки сельскохозяйственной продукции : учебное пособие для вузов / Л. В. Антипова, О. П. Дворянинова ; под научной редакцией Л. В. Антиповой. — 2-е изд., перераб. и доп. — Москва : Издательство Юрайт, 2022. — 204 с. — (Высшее образование). — ISBN 978-5-534-12435-4. — Текст : электронный // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. — URL: <https://urait.ru/bcode/493603> (дата обращения: 03.11.2022).
3. Биотехнология : учебник и практикум для вузов / под редакцией Н. В. Загоскиной, Л. В. Назаренко. — 3-е изд., испр. и доп. — Москва : Издательство Юрайт, 2022. — 381 с. — (Высшее образование). — ISBN 978-5-534-13546-6. — Текст : электронный // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. — URL: <https://urait.ru/bcode/497604> (дата обращения: 03.11.2022).
4. Биотехнология растений : учебник и практикум для вузов / Л. В. Назаренко, Ю. И. Долгих, Н. В. Загоскина, Г. Н. Ралдугина. — 2-е изд., испр. и доп. — Москва : Издательство Юрайт, 2022. — 161 с. — (Высшее образование). — ISBN 978-5-534-05619-8. — Текст : электронный // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. — URL: <https://urait.ru/bcode/491541> (дата обращения: 03.11.2022).
5. Винаров, А. Ю. Безотходная биотехнология этилового спирта : монография / А. Ю. Винаров, А. А. Кухаренко, Н. Е. Николайкина. — 2-е изд., перераб. и доп. — Москва : Издательство Юрайт, 2022. — 217 с. — (Высшее образование). — ISBN 978-5-534-15582-2. — Текст : электронный // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. — URL: <https://urait.ru/bcode/508853> (дата обращения: 03.11.2022).
6. Вирусология и биотехнология : учебник / Р. В. Белоусова, Е. И. Ярыгина, И. В. Третьякова [и др.]. — 3-е изд., стер. — Санкт-Петербург : Лань, 2022. — 220 с. — ISBN 978-5-8114-2266-1. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/212738> (дата обращения: 03.11.2022). — Режим доступа: для авториз. пользователей.
7. ГОСТ Р 57079-2016 Биотехнологии. Классификация биотехнологической продукции. - М. – Стандартинформ, 2020. - 19 с.
8. Келль, Л. С. Экологическая биотехнология : учебное пособие для вузов / Л. С. Келль. — Санкт-Петербург : Лань, 2022. — 232 с. — ISBN 978-5-8114-8818-6. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/221165> (дата обращения: 03.11.2022). — Режим доступа: для авториз. пользователей.

9. Ким, И. Н. Микробиология переработки водных биологических ресурсов : учебное пособие для вузов / И. Н. Ким, В. В. Кращенко. — 2-е изд. — Москва : Издательство Юрайт, 2022. — 272 с. — (Высшее образование). — ISBN 978-5-534-14789-6. — Текст : электронный // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. — URL: <https://urait.ru/bcode/497166> (дата обращения: 03.11.2022).
10. Общая биотехнология : учебное пособие для вузов / О. Н. Чечина. — 3-е изд., перераб. и доп. — Москва : Издательство Юрайт, 2022. — 266 с. — (Высшее образование). — ISBN 978-5-534-13660-9. — Текст : электронный // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. с. 30 — URL: <https://urait.ru/bcode/494460/p.30> (дата обращения: 24.11.2022).
11. Оборудование биотехнологических производств : учебное пособие для вузов / И. А. Евдокимов [и др.] ; под редакцией И. А. Евдокимова. — Москва : Издательство Юрайт, 2022. — 206 с. — (Высшее образование). — ISBN 978-5-534-12433-0. — Текст : электронный // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. — URL: <https://urait.ru/bcode/495717> (дата обращения: 03.11.2022).
12. Организация биотехнологического производства : учебное пособие для вузов / А. А. Красноштанова [и др.] ; под редакцией А. А. Красноштановой. — Москва : Издательство Юрайт, 2022. — 170 с. — (Высшее образование). — ISBN 978-5-534-13029-4. — Текст : электронный // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. — URL: <https://urait.ru/bcode/496541> (дата обращения: 03.11.2022).
13. Процессы и аппараты биотехнологии: ферментационные аппараты : учебное пособие для вузов / А. Ю. Винаров [и др.] ; под редакцией В. А. Быкова. — 2-е изд., перераб. и доп. — Москва : Издательство Юрайт, 2022. — 274 с. — (Высшее образование). — ISBN 978-5-534-10765-4. — Текст : электронный // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. — URL: <https://urait.ru/bcode/493206> (дата обращения: 03.11.2022).
14. Чечина, О.Н. Общая биотехнология : учебное пособие для вузов / О. Н. Чечина. — 3-е изд., перераб. и доп. — Москва : Издательство Юрайт, 2022. — 266 с. — (Высшее образование). — ISBN 978-5-534-13660-9. — Текст : электронный // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. с. 31 — URL: <https://urait.ru/bcode/494460/p.31> (дата обращения: 24.11.2022).
15. Шмид Р. Наглядная биотехнология и генетическая инженерия [Электронный ресурс] / Р. Шмид ; пер. с нем. — 2-е изд. (эл.). — Электрон. текстовые дан. (1 файл pdf : 327 с.). — М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2015. — Систем. требования: Adobe Reader XI ; экран 10". ISBN 978-5-9963-2407-1

## ПРИЛОЖЕНИЕ А

### Классификация аминокислот

Алифатические					Серосодержащие	
глицин (Gly, G)	аланин (Ala, A)	валин <span style="color: red;">★</span> (Val, V)	лейцин <span style="color: red;">★</span> (Leu, L)	изолейцин <span style="color: red;">★</span> (Ile, I)	цистеин (Cys, C)	метионин <span style="color: red;">★</span> (Met, M)
H	CH <sub>3</sub>	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{CH} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\   \\ \text{H}_3\text{C}-\text{CH} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\boxed{\text{C}}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\   \\ \text{SH} \\ \text{8,3} \\ \text{pK}_a \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{S} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$
-2,4	-1,9	-2,0	-2,3	-2,2	-1,2	-1,5
<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">полярность</div>						
Ароматические			Иминокислоты	Нейтральные		
фенилаланин <span style="color: red;">★</span> (Phe, F)	тирозин (Tyr, Y)	триптофан <span style="color: red;">★</span> (Trp, W)	пролин (Pro, P)	серин (Ser, S)	треонин <span style="color: red;">★</span> (Thr, T)	
$\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\   \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\   \\ \text{C}_6\text{H}_4 \\   \\ \text{OH} \\ \text{10,1} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\   \\ \text{Indole} \\ \text{индолевая} \\ \text{система} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{CH} \\   \\ \text{HN} \quad \text{CH}_2 \\   \quad \quad   \\ \text{H}_2\text{C} \quad \text{CH}_2 \\ \text{пирролидиновое} \\ \text{кольцо} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\   \\ \text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\boxed{\text{C}}-\text{H} \\   \\ \text{OH} \end{array}$	
+0,8	+6,1	+5,9	+6,0	+5,1	+4,9	
<span style="color: red;">★</span> незаменимые аминокислоты <span style="float: right;">□ хиральный центр</span>						
Нейтральные		Кислые		Основные		
аспарагин (Asn, N)	глутамин (Gln, Q)	аспарагиновая кислота (Asp, D)	глутаминовая кислота (Glu, E)	гистидин (His, H)	лизин <span style="color: red;">★</span> (Lys, K)	аргинин (Arg, R)
$\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\   \\ \text{CONH}_2 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CONH}_2 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\   \\ \text{COO}^- \\ \text{4,0} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{COO}^- \\ \text{4,3} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\   \\ \text{Imidazole} \\ \text{имидазольное} \\ \text{кольцо} \\ \text{6,0} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{NH}_3^+ \\ \text{10,8} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{NH} \\   \\ \text{C} \\ / \quad \backslash \\ \text{H}_2\text{N} \quad \text{NH}_2 \\ \text{12,5} \end{array}$
+9,7	+9,4	+11,0	+10,2	+10,3	+15,0	+20,0
<b>А. Протеиногенные аминокислоты</b>						

## ПРИЛОЖЕНИЕ Б

### Тестовые задания

1. Какое брожение осуществляют микроорганизмы, применяющиеся в пищевой промышленности? Выберите один или несколько правильных ответов

- А) муравьинокислое
- Б) пропионовокислое
- В) спиртовое
- Г) маслянокислое
- Д) гомоферментативное молочнокислое
- Е) гетероферментативное молочнокислое

2. Что может быть объектами в биотехнологии? Выберите один правильный ответ

- А) штаммы микроорганизмов, выделенные из природы
- Б) коллекции культур и клеток
- В) искусственно сконструированные штаммы и клетки
- Г) все ответы верны

3. Перечислите продукты, получаемые в промышленном производстве с использованием микроорганизмов. Выберите один или несколько правильных ответов

- А) лекарственные препараты
- Б) дистиллированная вода
- В) мука
- Г) минеральные соли
- Д) витамины

4. Что такое бактериофаг? Выберите один правильный ответ

- А) продукт микробной трансформации
- Б) вирус человека или животного
- В) генетический маркер
- Г) вирус бактерии

5. Укажите основные отличия вирусов от бактерий. Выберите один или несколько правильных ответов

- А) неклеточная форма жизни
- Б) свободноживущие формы
- В) наличие белковой оболочки и нуклеиновой кислоты
- Г) клеточное строение
- Д) размножаются только в клетках хозяина
- Е) обособленное ядро

6. Для чего при подготовке биообъекта культивирования используют элективную питательную среду? Выберите один правильный ответ

- А) для подбора продуцента из имеющихся коллекций
- Б) для получения накопительной культуры м.о.
- В) для проведения мутагенной обработки
- Г) для получения чистой культуры м.о.

7. Расставьте этапы технологии производства кормовых дрожжей в правильном порядке.

- А) плазмолизирование и упаривание
- Б) сушка и витаминизирование (витаминизация)
- В) выращивание дрожжей
- Г) подготовка субстрата — гидролизата
- Д) подготовка чистой культуры и засевных дрожжей

8. Чем характеризуется пищевой рацион? Выберите один или несколько правильных ответов

- А) биологической ценностью (аминокислотный состав)
- Б) биологической эффективностью (содержанием незаменимых ненасыщенных жирных кислот)
- В) пищевой ценностью (комплекс полезных свойств)
- Г) количеством балластных веществ в пище
- Д) энергетической ценностью

9. Что из перечисленного не относится к преимуществам микроорганизмов для производства пищи и кормов? Выберите один правильный ответ

- А) повышенное содержание незаменимых аминокислот
- Б) дешевизна и разнообразие сырья
- В) необходимость тщательного исследования их влияния на организм
- Г) наличие в продукте не только белков, но и других полезных веществ и элементов
- Д) прирост биомассы более интенсивный, чем в животноводстве

10. Укажите принципы асептики биотехнологического производства. Выберите один или несколько правильных ответов

- А) строгое поддержание постоянного режима культивирования
- Б) устранение посторонних микроорганизмов из реактора до введения в него продуцентов
- В) надёжная стерилизация питательных сред, компонентов, титрантов, пеногасителей
- Г) поддержание чистоты культуры на всём протяжении процесса стерилизация подаваемого в реактор воздуха

Учебное текстовое электронное издание

**Зяблицева Мария Анатольевна**

**БИОТЕХНОЛОГИЯ С ОСНОВАМИ БИОХИМИИ**

Учебное пособие

Ответственность за содержание возлагается на авторов  
Издается полностью в авторской редакции

1,20 Мб  
1 электрон. опт. диск

г. Магнитогорск, 2023 год  
ФГБОУ ВО «МГТУ им. Г.И. Носова»  
Адрес: 455000, Россия, Челябинская область, г. Магнитогорск,  
пр. Ленина 38

ФГБОУ ВО «Магнитогорский государственный  
технический университет им. Г.И. Носова»  
Кафедра химии  
Библиотечно-информационный комплекс  
e-mail: [bik@magtu.ru](mailto:bik@magtu.ru)