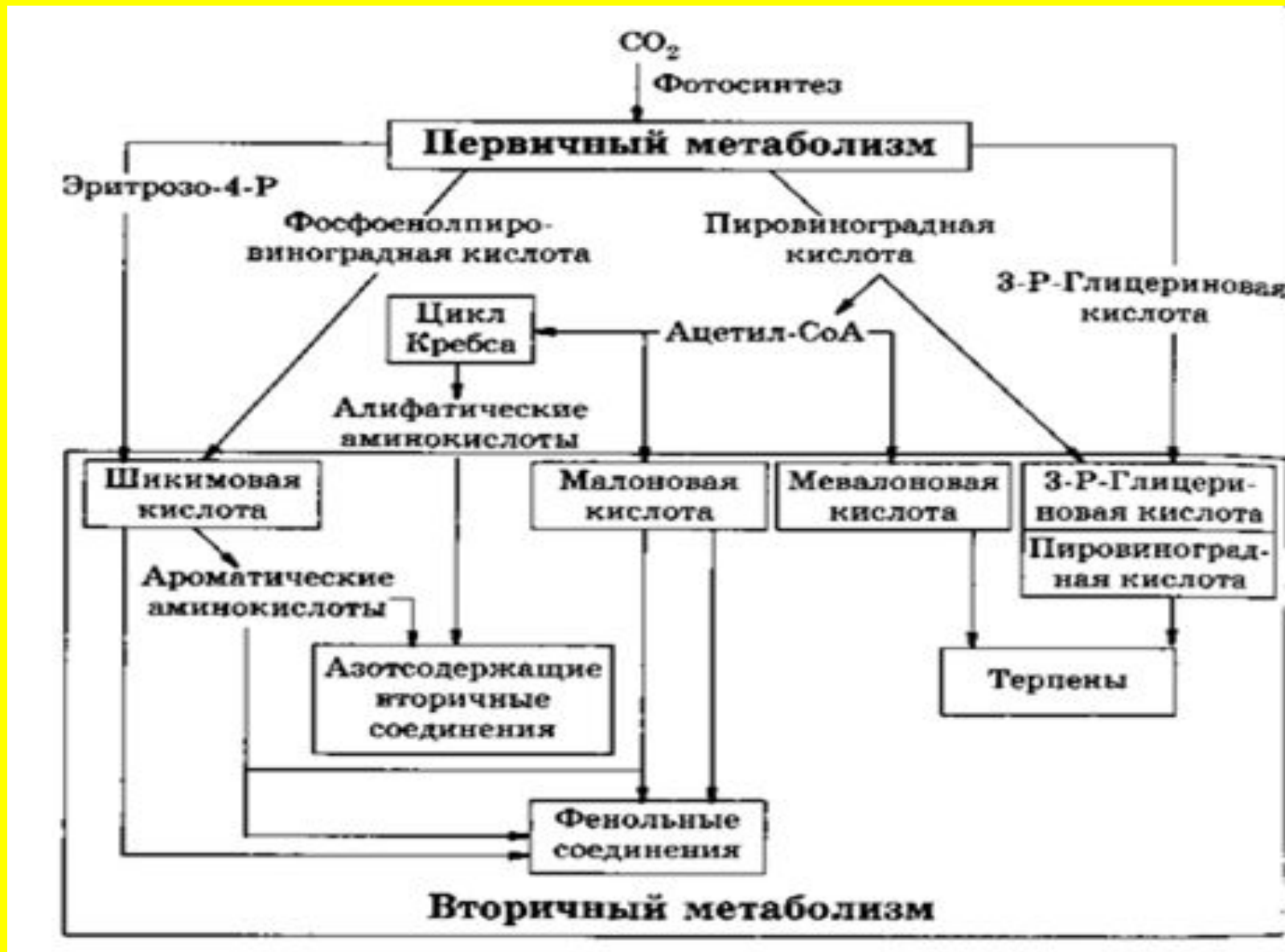
A photograph of a laboratory setting. In the background, a person wearing a white lab coat, a white hairnet, glasses, and a white face mask is working with a pipette. In the foreground, a large, brown turkey is visible. The text is overlaid on the image in a large, bold, black font.

**Биотехнологические основы
культивирования
микроорганизмов**

Основные пути синтеза вторичных соединений и их связь с первичным обменом веществ



Стадии промышленного биотехнологического процесса

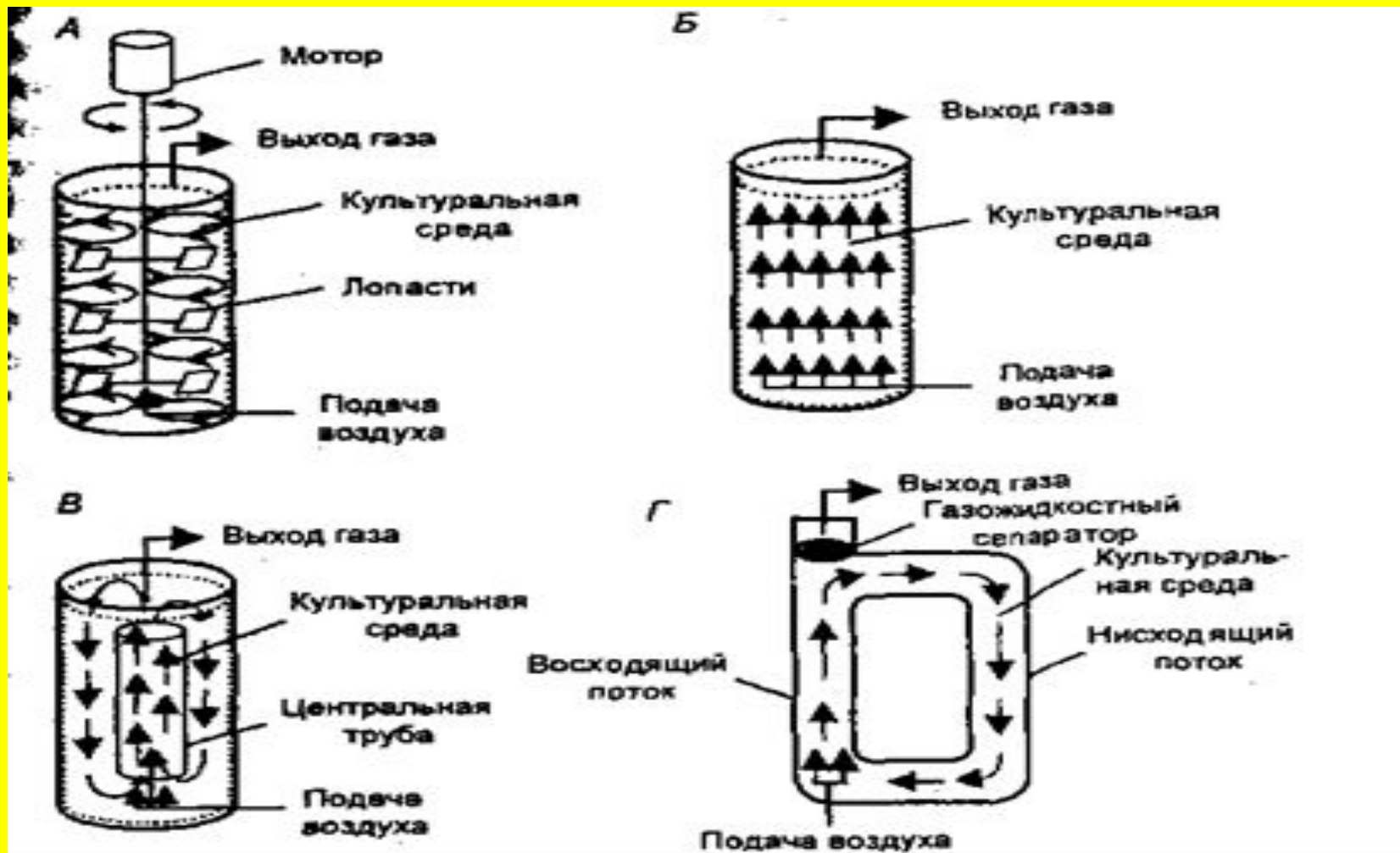
- подготовительную (обработка сырья, используемого в качестве источника питательных веществ, и приготовление, если это необходимо, питательных сред);
- — биотехнологическую (рост микроорганизмов-мишеней в большом — обычно объеме более 100 л — биореакторе (ферментация) с последующим образованием нужного метаболита, например антибиотика, аминокислоты или белка (биотрансформация);
- — получения готовой продукции (очистка целевого продукта от компонентов культуральной среды или от клеточной массы).

ГЛУБИННЫЙ СПОСОБ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

- Новым этапом в культивировании микроорганизмов явился примененный в 1933 году Ключвером и Пергиным способ встряхивания колб с жидкой средой на качалках с принудительной подачей стерильного воздуха. На этой основе был разработан так называемый **глубинный метод** выращивания микроорганизмов. Метод глубинного выращивания микроорганизмов был предложен вначале для культур аэробных грибов, в дальнейшем он стал использоваться для выращивания других микроорганизмов с целью производства антибиотиков, витаминов, ферментов, вакцин, антигенов и других биопрепаратов.

упрощенные схемы биореакторов различных типов

А — реактор с механическим перемешиванием; Б — барботажная колонна; В — эрлифтный реактор с внутренней циркуляцией; Г — лифтный реактор с внешней циркуляцией. Стрелки указывают направление потока культуральной среды



Этапы технологического процесса глубинного выращивания микроорганизмов в реакторах

- 1) подготовка реактора к посеву;
- 2) отбор штаммов микроорганизмов и работа с ними;
- 3) приготовление матровой культуры для засева питательной среды;
- 4) посев матровой культуры в реактор с питательной средой для получения производственной раскладки микроорганизмов;
- 5) выращивание микроорганизмов и контроль за ходом процесса

Способы культивирования микроорганизмов

- **Периодическое культивирование** — это аналог выращивания клеточных культур в колбах на качалке. Периодическую культуру можно рассматривать как замкнутую систему, которая в своем развитии проходит четыре фазы — начальную, экспоненциальную, стационарную и отмирания. Условия существования культуры во всех этих фазах различны.
- **Проточное (непрерывное)** -культивирование характеризуется постоянным добавлением в биореактор свежей питательной среды и постоянным отбором либо суспензии (открытое проточное культивирование), либо отработанной среды (закрытое проточное культивирование).

Разновидности открытого проточного культивирования

- **Хеостатный метод культивирования клеток** базируется на использовании биореактора, в который с постоянной скоростью подается питательная среда и одновременно же скоростью (например, слив по уровню) отбирается клеточная суспензия. При этом объем выращиваемой суспензии остается постоянным
- **Турбидостатный метод** предусматривает измерение концентрации клеточной биомассы в биореакторе и ее автоматическое поддержание на постоянном уровне путем изменения скорости протока. Работа турбидостата основана на поддержании постоянной плотности суспензии, или постоянной мутности. Датчик мутности регулирует через управляющую систему поступление питательного раствора. В сосуде для культивирования все питательные вещества содержатся в избытке, и скорость роста культуры приближается к максимальной.

Метод поверхностного культивирования микроорганизмов

Метод поверхностного культивирования микроорганизмов широко используется в лабораториях и биологической промышленности для следующих целей:

- выделение чистых культур из объектов внешней среды;
- определение контаминации производственных штаммов микроорганизмов, из которых готовят биопрепараты;
- приготовление в лабораторных и промышленных условиях некоторых вакцин и большинства антигенов.

Методы разделения биомассы и жидкости

- **отстаивание** — разделение под действием гравитационных сил (обычно при очистке сточных вод);
- — **фильтрация** — пропускание суспензии через фильтрующий материал, на котором задерживаются частицы твердой фазы — биомасса. Такой способ применяют в производстве антибиотиков, особенно в тех случаях, когда микроорганизм-продуцент имеет мицелиальный характер;
- — **сепарация, центрифугирование** — разделение под действием центробежных сил. Наиболее часто используют для отделения дрожжей или бактерий в производстве кормовой биомассы;
- — **микрофильтрация, ультрафильтрация** — пропускание суспензии через мембраны с весьма малым размером пор, обеспечивающее удерживание клеток микроорганизмов на мембране и получение чистого раствора. При ультрафильтрации отделяются не только клетки, но и крупные молекулы растворенных веществ;
- — **коагуляция** — добавление в суспензию реагентов, способствующих образованию и осаждению более крупных клеточных частиц и отделению их от жидкости методом отстаивания;
- — **флотация** — захват микроорганизмов пузырьками пены и

Основные методы разрушения клеток

- Замораживания;
- Продавливания,;
- Воздействием ультразвуком;
- Декомпрессии (резкого сброса давления);
- Гидролиз (разрушение клеточных оболочек под действием химических реагентов и температуры);
- Ферментолиз (разрушение клеточных оболочек под действием ферментов при повышенной температуре);
- Автолиз (разновидность ферментолиза, когда используют собственные ферменты клетки).

Выделение целевого продукта

- **экстракция** — переход целевого продукта из водной фазы в не смешивающуюся с водой органическую жидкость (экстрагент). Наиболее известно выделение жироподобных веществ жидкими углеводородами (типа бензина). Иногда экстракцию осуществляют непосредственно из биомассы микроорганизмов;
- — **осаждение** — выделение целевого продукта путем добавления к жидкости реагента, взаимодействующего с растворенным продуктом и переводящего его в твердую фазу;
- — **адсорбция** — перевод растворенного в жидкости продукта в твердую фазу путем его сорбции на специальных твердых носителях (сорбентах);
- — **ионный обмен** — в твердую фазу переходят ионы (катионы или анионы), а не молекула целевого продукта или смеси;
- — **отгонка, ректификация** — выделение растворенных культуральной жидкости легкокипящих продуктов, например этилового спирта;
- — **ультрафильтрация, нанофильтрация и обратный осмос** — выделение высокомолекулярных соединений (белков, пептидов, полинуклеотидов).

Методы очистки

- **хроматография** — процесс, напоминающий адсорбцию. На твердом сорбенте собираются растворенные вещества, часто близкие по структуре (например, смеси белков, сахаров, антибиотиков). При адсорбции они сорбируются вместе, а вот при хроматографии они выделяются из сорбента как бы по очереди, что позволяет отделить их друг от друга;
- **диализ** — процесс, в котором через полупроницаемую пленку могут проходить низкомолекулярные вещества, а высокомолекулярные остаются. Путем диализа осуществляют очистку вакцин и ферментов от солей и низко-молекулярных растворимых примесей;
- **кристаллизация** — процесс, основанный на различной растворимости веществ при разных температурах. Медленное охлаждение позволяет формировать кристаллы из растворов целевых продуктов, причем чистота их обычно очень высока. Можно даже получить еще более чистый продукт, если кристаллы растворить в воде или растворителе, а потом снова кристаллизовать (т. е. провести процесс перекристаллизации).

Концентрирование продукта

На стадии концентрирования применяют такие процессы, как **выпаривание, сушка, осаждение, кристаллизация, фильтрация, ультрафильтрация, гиперфильтрация или нанофильтрация**, обеспечивающие как бы отжим растворителя из раствора.

Получение готовой формы продукта

Завершающаяся биотехнологического производства. Продукт приобретает товарную форму за счет проведения процессов гранулирования (формирование гранул из порошка или прямо из раствора), дражирования, таблетирования (формирование драже, таблеток), розлива или фасовки, ампулирования (затаривания в ампулы).