

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ

Лекции – 26 часов, лабораторные занятия – 12 часов, УСР – 2 часа

Экзамен

Литература:

1. Кузнецов А.Е. Научные основы экобиотехнологии. Учеб. пособие для студентов / А.Е. Кузнецов, Н.Б. Градова. – М.: Мир, 2006.
2. Прикладная экобиотехнология: учеб. пособие: в 2 т. / А.Е. Кузнецов [и др.]. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2010.
3. Волова Т.Г. Экологическая биотехнология: учеб. пособие для университетов / Т.Г. Волова. – Новосибирск: Хронограф, 1997.
4. Экологическая биотехнология / под ред. К. Форстера, Д. Вейза. – Л.: Химия, 1990.
5. Glazer A.N. Microbial biotechnology: fundamentals of applied microbiology / A.N. Glazer, H. Nikaido. – Cambridge University Press, 2007.
6. Егорова Т.А. Основы биотехнологии: Учеб. пособие для высших педагогических учебных заведений / Т.А. Егорова, С.М. Клунова, Е.А. Живухина. – М.: Изд. центр «Академия», 2003.
7. Волова, Т.Г. Биотехнология / Т.Г. Волова. – Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2002.

ЛЕКЦИИ 1-2

ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ. ВВЕДЕНИЕ В ЭКОЛОГИЧЕСКУЮ БИОТЕХНОЛОГИЮ

1. Понятие о биотехнологии

2. Значение биотехнологии для различных отраслей народного хозяйства

3. Этапы развития биотехнологии

4. Экологическая биотехнология как раздел общей биотехнологии

ТЕХНОЛОГИЯ

– совокупность способов (приемов) для получения из исходного материала (субстрата) практически ценного продукта

Основные классы технологий:

– физико-механические технологии

исходный материал (сырье) в процессе получения продукта меняет форму или агрегатное состояние, но не изменяет химического состава;

– химические технологии

исходный материал (сырье) претерпевает изменение химического состава;

– биотехнологии

целенаправленное получение ценных для народного хозяйства и практической деятельности человека соединений с использованием биохимической деятельности микроорганизмов, клеток растений и животных, и их компонентов

ОСОБЕННОСТИ БИОТЕХНОЛОГИИ

– *использование биологических систем (микроорганизмов, клеток растений и животных, клеточных компонентов)*

получение настойки женьшеня из корня женьшеня и из каллусной культуры;
получение глюкозы из крахмала кислотным и ферментативным гидролизом;

–целенаправленность

очищение загрязненной нефтью почвы с помощью естественной биологической активности аборигенной микробиоты и внесения специально подобранных высокоактивных микроорганизмов-нефтедеструкторов.



ВИДЫ БИОХИМИЧЕСКОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ, используемые в биотехнологии

– наращивание биомассы

получение пекарских дрожжей, кормовых дрожжей, пробиотиков, заквасок;

– биосинтез (de novo) в процессе роста практически ценных соединений (внеклеточные и внутриклеточные продукты)

получение витаминов, антибиотиков, органических кислот;

– микробиологическая биотрансформация

получение уксуса из этанола, диоксиацетона из глицерина, превращение глюкозы во фруктозу;

– утилизация микроорганизмами веществ, являющихся загрязнителями
биологическая очистка сточных вод, биоремедиация почв;

– микробное выщелачивание

перевод в растворенное, доступное для извлечения, состояние ценных металлов (медь, цинк, уран) из руд;

– использование биохимической деятельности микроорганизмов для образования газов

создание пористых металлов, хлебопечение, получение пива и шампанского.

ПРЕИМУЩЕСТВА БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ по сравнению с химическими технологиями

- **возможность получения уникальных природных соединений**, которые не могут быть синтезированы химически или их химический синтез не рентабелен (ДНК, белки, др.);
- **высокая специфичность** микробных ферментов позволяет осуществлять **тонкие перестройки** молекул с использованием простых технологических схем, в то время как аналогичные химические превращения многостадийны, трудоемки или невозможны (1,2-дегидрирование и 11 β -гидроксилирование стероидов при синтезе лекарственных препаратов);
- **«мягкие» условия протекания реакций**: водные среды, относительно невысокие температуры (не выше 100 °С) и давление (атмосферное);
- **высокие скорости роста, протекания метаболических процессов и накопления биомассы микроорганизмов** (за сутки в ферментере объемом 300 м³ можно наработать 1 т белка (365 т/год) = 30 000 голов крупного рогатого скота = бобовые с площади 5 400 га);
- **возможность использования в качестве сырья отходов сельского хозяйства и промышленности;**
- **экологическая безопасность**: образование небольшого количества вредных для биосферы отходов и побочных продуктов

ЭТАПЫ РАЗВИТИЯ БИОТЕХНОЛОГИИ

Допастеровский период (до 1865 г.)

приготовление хлеба, молочных продуктов (сыры, йогурт), получение спиртосодержащих напитков (вино, пиво) и других продуктов (уксус) на основе процессов брожения

Пастеровский период (1865-1940 гг.)

промышленное культивирование микроорганизмов с целью получения продуктов брожения (этанол, бутанол, ацетон, органические кислоты)

Эра антибиотиков (1940-1960 гг.)

промышленное производство пенициллина, стрептомицина, хлортетрациклина, микробное превращение стероидов (кортизона, тестостерона, эстрогена).

ЭТАПЫ РАЗВИТИЯ БИОТЕХНОЛОГИИ

Постантибиотическая эра (1960-1975 гг.)

расширение круга промышленно производимых микробных продуктов, включая микробиологическое производство аминокислот (глутамин и лизин), производство микробного белка, производство ферментов (протеазы, амилазы, глюкозоизомеразы), промышленное применение иммобилизованных ферментов (глюкозоизомераза), производство бактериальных полисахаридов (ксантан).

Эра новой биотехнологии (после 1975 г.)

Развитие синтетической биотехнологии, включая разработку технологий рекомбинантной ДНК (1974 г.) и получение с ее использованием первых продуктов (1982 г. – инсулин человека)

ДОСТИЖЕНИЯ БИОТЕХНОЛОГИИ



МЕЖДИСЦИПЛИНАРНАЯ ПРИРОДА БИОТЕХНОЛОГИИ



ЗНАЧЕНИЕ БИОТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ РАЗЛИЧНЫХ ОТРАСЛЕЙ ХОЗЯЙСТВА

- медицина;
- пищевая промышленность;
- сельское хозяйство;
- **ЭКОЛОГИЯ**;
- энергетика;
- химическая промышленность;
- нефтедобыча;
- получение металлов;
- прочие приложения



БИОТЕХНОЛОГИЯ В МЕДИЦИНЕ

К 1778 году сотни тысяч людей ежегодно умирали от оспы



Учёный Эдвард Дженнер обратил внимание на то, что доярки, переболевшие коровьей оспой, не заражаются оспой человеческой



Так появилась первая вакцина

БИОТЕХНОЛОГИЯ В МЕДИЦИНЕ

- **Вакцины**

живые, «убитые», «химические» обезвреженные токсины

- **Антибиотики**

1929 г. – А. Флеминг открыл пенициллин, 1938 г. – Г. Флори и Э. Чейн выделили пенициллин в чистом кристаллическом виде, 1940-1950 гг. – с помощью пенициллина спасены жизни более 15 млн человек

- **Витамины**

синтез витаминов B_2 , B_{12} , одна из стадий синтеза витамина C

- **Инсулин**

- **Гормон роста (соматотропин)**

10 чел на 1 млн населения - карлики

- **Иммуномодуляторы** (интерферон, интерлейкины)

- **Иммунодепрессанты** (циклоспорин А)

- **Кровезаменители** (полиглюкин)

- **Стероидные гормоны**

- **Медицинские ферменты** (лизоцим, стрептокиназа, β -галактозидаза, протеаза, L-аспарагиназа)

- **Коферменты** (инозин, рибоксин, убихинон)

БИОТЕХНОЛОГИЯ В МЕДИЦИНЕ

- **Аминокислоты**
- **Подсластители** (*аспартам*)
- **Пробиотики**
- **Женьшень**
- **Биоразлагаемые полимеры** (*полигидкорсибутират, полилактат*)
- **Моноклональные антитела**
- **Нуклеотиды и нуклеозиды**
- **ПЦР-диагностика**
- **ИФА-диагностика**
- **Персонафицированная медицина**
- **Нейропептиды**
- **Косметические токсины** (*ботулинистический токсин*)

БИОТЕХНОЛОГИЯ В ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

- **Вино, пиво, квас, дрожжевой хлеб**

продукты естественного брожения известны с давних времен

- **Кисломолочные продукты**
- **Уксус**

*из спирта с помощью уксуснокислых бактерий *Glucanobacter* и *Acetobacter**

- **Органические кислоты (подкислители)**

лимонная (200 тыс.т/год), молочная (50 тыс.т/год), итаконовая, глюконовая, фумаровая

- **Глутаминовая кислота (глутамат)**
- **Витамины** (β -каротин, витамины группы B)
- **Спирт** (+углекислый газ для газированных безалкогольных напитков)
- **Глюкозо-фруктозные сиропы** (на 30% дешевле сахара);
- **Пищевой белок** (микропротеин – биомасса мицелиальных грибов рода *Fusarium*)
- **Ферментированные мясные изделия**
- **Ферменты** (протеазы, пектиназы, глюкозоизомеразы, целлюлазы, β -галактозидазы, глюкозооксидазы)
- **Пищевые красители**
- **Пищевые загустители** (декстран)
- **Пищевые консерванты** (дальвацин, низин)

БИОТЕХНОЛОГИЯ В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ

- **Вакцины**
- **Антибиотики**
- **Пробиотики**
- **Дезинфектанты**
- **Кормовые витамины**
- **Гормоны роста**
- **Кормовой белок** (*биомасса дрожжей Candida maltosa, выращенных на жидких парафинах – отходах нефтепроизводства*)
- **Кормовые аминокислоты** (*незаменимые – изолейцин, лизин, лейцин, метионин, треонин, триптофан, валин, фенилаланин, гистидин, аргинин + пролин для птицы*);
- **Закваски для силосовая**
- **Антибиотики для растений**
- **Ростовые гормоны (ИУК)**
- **Биоудобрения**
- **Биопестициды**
- **Биоинсектициды**
- **Безвирусная рассада**

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ

- *использование биотехнологии для охраны окружающей среды.*

- **Биотехнологическая очистка стоков**

начало XX века – аэробная очистка коммунально-бытовых и промышленных стоков с использованием активного ила.

- **Биосорбция тяжелых металлов из стоков**

аккумуляция в клетках микроорганизмов свинца, меди, никеля, хрома в высокой концентрации → сырье для получения цветных металлов

- **Биокомпостирование твердых отходов**

Смешивание ТБО с микроорганизмами, осуществляющими их деструкцию, и балластным материалом (торф и др.) (для улучшения аэрации)

- **Метановое сбраживание твердых отходов (получение биогаза)**

1776 г. – А. Вольта обнаружил, что в болотном газе содержится метан.

1901 г. – получение биогаза (65% - метан, 30% - углекислый газ) путем анаэробного сбраживания осадка избыточного активного ила, образующего в очистных сооружениях; биогаз накапливается в метантенках под давлением; сброженный осадок – удобрение.

- **Биологическая очистка газовоздушных выбросов**

Биофильтры = специальная насадка + микроорганизмы-деструкторы

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ

- **Биодеградация нефтяных загрязнений в почве и воде**
- **Биодеградация химических пестицидов и инсектицидов**
- **Обессеривание нефти и каменного угля**

Микроорганизмы, восстанавливающие серу из сульфидов и меркаптанов в элементарную → повышение экологичности топлива (меньше выбросов диоксида серы в атмосферу)

- **Борьба с накоплением метана в шахтах**

Накопление метана → взрывы → решение: внесение культур микроорганизмов, утилизирующих метан (могут служить источником кормового белка)

- **Обогащение воздуха кислородом**

В замкнутых пространствах (космический корабль, подводная лодка, др.) путем культивирования цианобактерий (хлорелла)

- **Биоразлагаемые биополимеры**

XX век – век пластмасс (полипропилен, полиэтилен), замена их на полилактат, полибутират, специальным образом обработанный крахмал в смеси с целлюлозой.

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ

решение энергетической проблем

- **Получение биогаза из органических отходов**

Китай, Индия. Производство на основе сельскохозяйственных отходов (навоз), установки относительно небольшого размера (1-10 м³).

- **Получение водорода биофотолизом воды**

Водород – экологически чистое топливо, имеющее высокую теплотворную способность (12,8 кДж/м³). Используются фототрофные бактерии.

- **Биосинтез углеводов микроорганизмами**

*Синтез жидких и твердых углеводов микроводорослями (*Botriococcus braunii* – до 75%, *Dunaliella berdause* – до 85% сухой массы клеток).*

- **Получение биотоплива и растворителей**

Бутанол, этанол – анаэробное ацетонобутиловое и спиртовое брожение крахмалсодержащего сырья



АЛЬТЕРНАТИВНАЯ ЭНЕРГЕТИКА

Ветроэнергетика

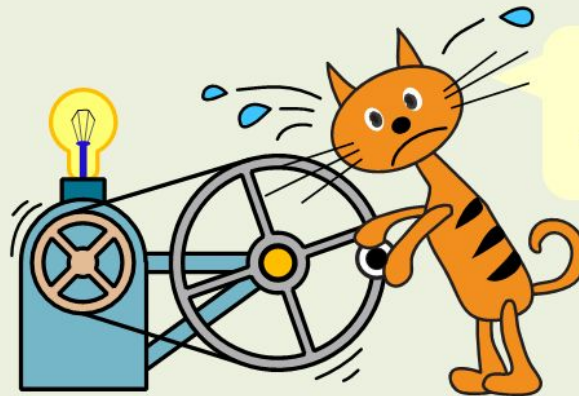
Солнечная
энергетика

Альтернативная
гидроэнергетика

Геотермальная
энергетика

Биоэнергетика

Водородная
энергетика



Это я, что ли,
«биоэнергетика»?



ОСНОВНЫЕ СТАДИИ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА

- **Подготовка культуры микроорганизма-продуцента.**
- **Подготовка сырья.**
- **Стадия ферментации.**
- **Выделение и очистка целевого продукта.**
- **Приготовление товарной формы целевого продукта.**

ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ

- бактерии и цианобактерии;
- дрожжи;
- мицелиальные грибы;
- водоросли;
- простейшие.



ТРЕБОВАНИЯ К ШТАММАМ-ПРОДУЦЕНТАМ

- способность расти в чистой культуре и генетическая стабильность;
- отсутствие патогенности и токсичности;
- высокая скорость роста при массовом культивировании и способность синтезировать продукт в большом количестве и за короткий промежуток времени;
- устойчивость к контаминации;
- способность расти на простых и дешевых питательных средах.

Продукты микробиологического производства	Микроорганизмы-продуценты
Пищевые продукты <i>Кисломолочные продукты</i> <i>Соления и маринады</i> <i>Уксус</i> Пищевые и кормовые добавки <i>Аминокислоты</i> <i>Белок</i> <i>Витамины</i>	Lactobacillus spp., Leuconostoc spp., Streptococcus spp., Lactococcus spp. Lactobacillus spp., Leuconostoc spp., Pediococcus spp. Acetobacter aceti, Gluconobacter suboxidans Corynebacterium glutamicum, Brevibacterium flavum, Micrococcus spp. Methylomonas spp., Methylophilus methylo-trophus, Anabaena spp., Spirulina spp. Saccharomyces cerevisiae. Clostridium spp., Propionibacterium freudenreichii, Pseudomonas denitrificans, Bacillus megaterium, Gluconobacter spp.

Продукты микробиологического производства	Микроорганизмы-продуценты
<p>Промышленные соединения</p> <p><i>Спирты</i></p> <p><i>Ацетон</i></p> <p><i>Органические кислоты</i></p> <p><i>Полисахариды</i></p> <p>Ферменты</p> <p>Лекарственные препараты</p> <p><i>Антибиотики</i></p> <p>Биологически активные вещества</p> <p><i>Инсектициды</i></p>	<p>Zimomonas mobilis, Clostridium spp.</p> <p>Clostridium spp.</p> <p>Lactobacillus spp., Acetobacter spp., Clostridium aceticum, Gluconobacter spp., Propionibacterium spp., Pseudomonas spp.</p> <p>Leucomonstoc mesenteroides, Azotobacter vinelandii</p> <p>Bacillus spp., Streptomyces spp., Actinomyces spp., Escherichia coli, Clostridium spp.</p> <p>Streptomyces spp., Bacillus spp.</p> <p>Bacillus thuringiensis</p>

Группы ферментов	Ферменты	Бактерии-продуценты
Гликозидазы	<p>α-амилаза Пуллуланаза β-галактозидаза Инвертаза Полигалактуроназа, пектин-эстераза Пектиназы</p>	<p><i>Bacillus licheniformis</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Bacillus subtilis</i>, <i>B. diastaticus</i> <i>Clostridium felsineum</i> <i>Erwinia spp.</i>, <i>Bacillus polymyxa</i></p>
Протеазы	<p>Коллагеназа Аспартаза Комплекс «римопротелин» Комплекс «протелин»</p>	<p><i>Clostridium histolyticum</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Actinomyces rimosus</i> <i>Streptomyces griseus</i></p>
Липазы	Фосфокиназы	<i>Clostridium spp.</i> , <i>Bacillus spp.</i>
Негидролитические ферменты	<p>Фумараза Глюкозоизомеразы</p>	<p><i>Escherichia coli</i> <i>Streptomyces spp.</i>, <i>Bacillus spp.</i></p>

ГРИБЫ

- антибиотики (*Penicillium* spp.);
- гиббереллины и цитокинины (*Fusarium* spp., *Botrytis* spp.);
- каротиноиды (астаксантин, *Rhaffia rhodozima*,);
- белок (*Candida*, *Saccharomycopsis lipolytica*);
- спирты (*Saccharomyces cerevisiae*, *Kluveromyces fragilis*);
- сыры типа рокфор и камамбер (*Penicillium* spp.);
- соевый соус (*Aspergillus oryzae*).

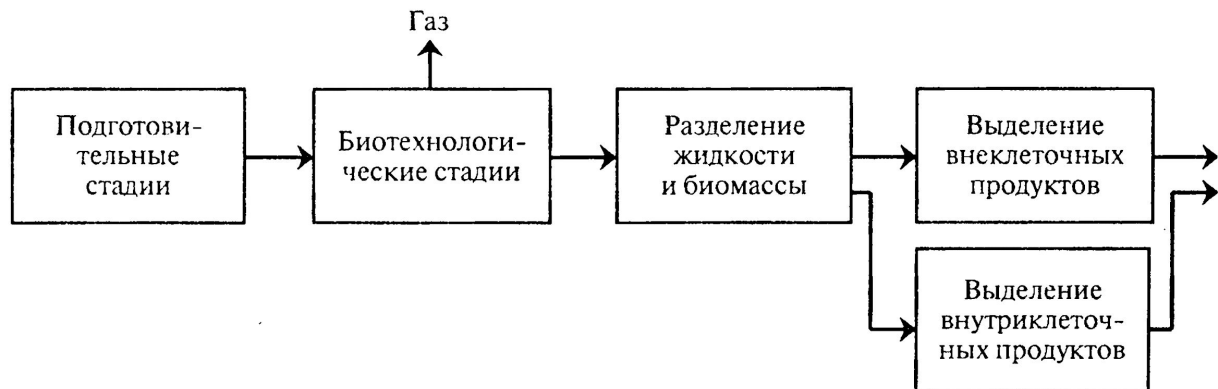
ПРОСТЕЙШИЕ

- Противоопухолевые препараты круцин и трепаноза (*Trypanosoma* (*Schizotrypanum cruzi*)), астазилид (*Astasia longa*), парамилон (*Astasia* spp., *Euglena* spp.).
- Потенциальные продуценты белка и гетерополисахаридов.

ВОДОРОСЛИ

- кормовой и пищевой белок (*Chlorella* spp., *Scenedesmus* spp.);
- пищевые и витаминные добавки (*Ulva* spp., *Porfira* spp., *Undaria* spp., *Rhodimenia* spp., *Alaria* spp.);
- глицерол (*Dunaliella bardawil*)

СТАДИИ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА

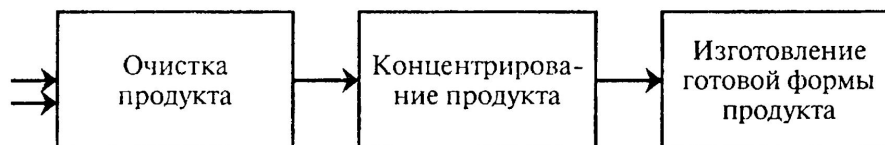


Приготовление среды
Стерилизация среды
Подготовка и стерилизация газов (воздуха)
Подготовка посевного материала
Приготовление биокатализатора
Предварительная обработка сырья

Ферментация
Биотрансформация
Биокатализ (реакции с ферментами)
Биоокисление
Метановое брожение
Биокомпостирование
Биосорбция
Бактериальное выщелачивание
Биодеградация

Отстаивание
Фильтрация
Сепарация
Центрифугирование
Микрофильтрация
Ультрафильтрация
Коагуляция
Флотация

Экстракция и экстрагирование
Осаждение
Центрифугирование
Адсорбция
Ионный обмен
Отгонка, ректификация
Дезинтеграция
Гидролиз
Ферментолиз
Ультрафильтрация



Экстракция
Осаждение
Адсорбция
Ионный обмен
Хроматография
Диализ
Ультрафильтрация
Обратный осмос
Ферментолиз
Кристаллизация
Ректификация

Выпаривание
Сушка
Осаждение
Кристаллизация
Фильтрация
Ультрафильтрация
Нанофильтрация

Гранулирование
Дражирование
Таблетирование
Розлив
Фасовка
Ампулирование