

Дәріс № 7.

Тақырыбы: Витаминдер биотехнологиясы. Витаминдердің жеке биотехнологиясы. Нормофлора препараттарының жалпы сипаттамасы. Нормофлора препараттарының өндірісі. Нормофлора препараттарының жеке технологиясы. БАЗ заттарын алу мақсатында органикалық байланыстардың микробиологиялық трансформациясы. Амин қышқылы өндірісі. Амин қышқылы биотехнологиясы. Амин қышқылының жеке технологиясы.

Мақсаты: Витаминдер, адамның қалыпты флорасы, биотрансформация туралы түсінік беру; студенттерді витаминдердің жеке технологиясымен, қалыпты микрофлораның препараттарымен таныстыру, амин қышқылдарын алу әдістерімен, аминқышқыл биосинтезін реттеу механизімімен таныстыру.

1. B12 витаминінің активті продуценті болып Pseudomonas бактерия туысы жатады. Термофильді бацилл Bacillus circulans негізінде, 18 сағат аралығында 65–75°C температурада залалсыздалмаған жағдайда тиімді технология өңделген. 2.0 – ден 6.0 мг/л. витаминнің шығымы құрайды. Бактерияларды балық және соя ұны, ет және жүгері экстракті негізінде дайындаған бай ортада өсіріледі.

Медицина үшін В12 – нің өнімі 12 т/г құрайды; 0,95% NaCl негізіндегі CN-В12 залалсыздалған ерітіндісін және фолие қышқылының қоспасын немесе басқа витамин қосылған түйме дағы шығарылады. Мал шаруашылығына қажет В12 витаминнің термофильді метаногенді бактерияның аралас ассоциациясы негізінде алу. Ассоциация 4- культурадан тұрады, органикалық субстрат CO₂ және CH₄ көмірсу ашытушы, аммонифицирлеуші, сульфат тотықтырушы және метан түзуші бактерияға дейін бір бірімен байланысты ыдыратады.

**Субстрат ретінде декантирленген ацетонбутил
2,0–2,5 % құрғақ затты құрайтын
қолданылады. Ашу 55–57°C залалсызданбаған
культурада екі фазада жүреді: бірінші май
қышқылы және метан пайда болады, екінші –
метан, көмірқышқылы және B12 витамині
пайда болады. Процестің ұзақтығы бір
аппаратта 2,5–3,5 тәулікті құрайды,
тізбектелген екеуі – 2–2,5 тәулікті құрайды.
Ашытпада витамин концентрациясы 850 мкг/л
жетеді. Параллель әжептеуір мөлшерде, 20
м³/м³ дейін газ пайда болады (65 % метан және
30 % көмір қышқылы).**

Ашытпада әлсіз сілтілі реакция жүреді. Витаминді тұрақтандыру үшін оны тұз қышқылымен немесе фосфор қышқылымен қышқылдайды, сосын буландырғыш аппаратта құрғақ заттың құрамын 20 % дейін қоюландырады және желдеткіш кептіргіште кептіреді. Құрғақ препаратта В12 витамині – 100 мкг/г дейін жетеді.

3. B2 витамині (рибофлавин) өзінің атын рибоза қантынан алады, витамин молекуласының құрамына кіретін D-рибит көп атымды спирт. Табиғатта кең таралған өсімдікпен, ашытқымен, саңырауқұлақпен, бактериямен біраз мөлшерде синтезделеді. Жануарлар бұл витаминді синтездемейтінді комбикорм құрамынан алады. Организмнің рибофлавиннің тапшылығы ақуыздың алмасу процесін бұзады, өсуін баяулатады. Рибофлавин препараты медицинада бірқатар ауруларға емдік ретінде қолданылады, ал жануарлардың организміне қоспа ретінде қолданылады. Рибофлавинді және екі оның коферментті формаларын – ФАД и ФМН микроорганизмдер синтездейді.

**Витамин продуценті болып
(*Brevibacterium ammoniagenes*,
Micrococcus glutamaticus)
бактериясы, (*Candida guilliermondii*,
C. flaveri) ашытқысы, (*Ashbya
gossypii*, *Eremothecium ashbyii*)
микроскоптық және (*Aspergillus
niger*) зең саңырауқұлағы саналады.**

Эргостерин – (эргост-5,7,22-триен-3 β -ол) – D₂ витаминнің өндірісі бастапқы өнімі және ашытқының азықтық препараты, D₂ витаминімен байытылған. Витамин (эргокальциферол) эргострин ультракүлгін сәулесімен шағылыстырудан кейін пайда болады, олар біраз мөлшерде балдырларды, ашытқыны, зең саңырауқұлағын синтездейді. Эргостериннің активтілігі жоғары продуценті – *Saccharomyces*, *Rhodotoryla*, *Candida* саналады.

Өндірістік масштабта эргостеринді ашытқыны және мицелиалы саңырауқұлақты азот тапшы қанты мол ортада өсіреді, жоғарғы температурада және аэрациялау жағдайында жақсысымен культивирлеп алады.

Эргостериннің қарқындылығы жоғарылауы, ашытқының Candida туысынан көмірсутегі бар ортада пайда болады. D2 витаминінің кристалл препаратын (Penicillium, Aspergillus) зең саңырауқұлағын культивирлеумен алады.

Азықтық препарат алу үшін суспензияны немесе (Candida) құрғақ ашытқыны ультракүлгін сәулесімен шағылыстырады.

4. Микробиологиялық өндірістің негізгі мақсатының бірі ауылшаруашылығын жарамды азықтық ақуызбен қамтамасыз ету болып саналады. Азықтық ақуыз өнімін алуға арналған шикізаттың тауарлы аты: өсімдік шикізатының гидролизатында және азықтық ақуыз немесе гапринде алады; мұнай парафинінде – азықтық ақуыз және ақуыз – витаминді концентрат алады.

Ақуыз алу. Ақуыздың көп тонналы микробиологиялық өндірісін үнемі дамытып отыру қажет, өйткені сол арқылы тағамдық базаның сапасын жақсартуға және кеңейтуге болады, адамға, қоршаған орта үшін минимальды зиян келтіретін, қол еңбегі аз жұмсалатын жоғары сапалы ақуыз өнімдерін алуға мүмкіндік береді.

“Ақуыз” деген термин орыс тілінде жұмыртқаның ақ уызы деген сөзден шыққан. Жұмыртқаның ақ уызы қыздыру кезінде қатайып, ақ түсті жентекке айналады. Ақуызға қатысты “протеин” грек тілінде “proteios”-деген термин қолданылады. Ол алғашқы аса маңызды деген мағынаны білдіреді. Бұл мағына тіршілік процесінде ақуыздың аса маңызды екенін көрсетеді.

Ақуыздық заттар өсімдікте түзіледі. Ол үшін топырақтағы азот қосылыстары пайдаланылады. Ал бұршақ тұқымдас өсімдіктер ауаның құрамындағы азотты пайдаланып, ақуыз түзе алады.

Жануарлар дүниесі және адам баласы ақуызды амин қышқылдарынан және басқа да азоты бар органикалық заттардан синтездейді. Олар ондай заттарды өсімдіктерден және басқа өздері қоректену үшін пайдаланатын жануарлардан алады.

**Ақуыз продуцентінің
микроорганизмі. Көміртегі көзінің
сапалығы метил спиртін
ассимилирлеуге қабілеті бар,
әсіресе ол ашытқыларда жақсы
көрінеді, оның ішінде *Candida
silvicola*, *Candida boidida*,
Hansenula polymorpha, *Torulopsis
glabrata*, *Torulopsis ernobii*
ашытқыларыда.**

Бұл ашытқылардың ішінде *T. ernobii* басқа түрлерге қарағанда метил спиртің тез сіңіреді, себебі рН оптимальды мәні процестің бактериямен оптимальды мәні, процестің бактериямен зақымдануын төмендетеді, ал оптимальды температурасы (37°C) ферментерді суытуға кеткен шығынды төмендетеді. Метил спиртің қоректену көзі ретінде қолданнатын бактериялардың кейбір түрлері белгілі: *Pseudomonas* және *Methylomonas*, *Ps methylotropha*, *Ps. rosea*, *Meth. methanollica*.

Метил спиртінің сіңіретін микроорганизмнің өсуі барысында ортаға күрделі органикалық заттар бөлінеді. Қоректік ортаның құрамындағы метил спирті 5-тен 10% -ке дейін басқа өнімге айналады. Олар өсудің ингибиторы болып табылуы мүмкін. Бұл микроорганизм – продуценті ақуыз қоспасының культурасын культивирлеуге мүмкіндік береді және кейбіреулері метил спиртінің қолданбайды. Осындай аралас культураларды қолдану барысында ақуыздың шығуы ұлғаяды.

Әр түрлі таксономикалық топтарға жататын микроорганизмдерді көмірсулы ортада өсіру мүмкіндігі өте кең зерттелген. Көмірсуды утилизациялауға қабілеттілігі көбінесе ашытқылардың өкілдерінде кездеседі. Бұлардың ішінде бірінші кезекте *Candida* туысын айту керек, мицелиялы саңырауқұлақтар өкілдерінде, көбінесе *Aspergillus* және *Fuzarium*, *Mucoraceae* туысының көптеген саңырауқұлақ түрлерінде және әр түрлі бактерияларда болады.

Мұнай компоненттерін утилизациялау мүмкіндігі табиғат құрамында көмірсутегі бар жерлерде дамитын микроорганизмдердің арасында жиі көрінеді. Осыған байланысты мұнай өңдеу мекемелерінің тұрып қалған суларының тұнбалары және мұнай өнімдері түскен әр түрлі жерлердің көмір сулармен бірге ортада белсенді өсетін штамдарды оқшаулау үшін қолданылуы мүмкін.

**Культивирлеу үшін ортаға
витаминдерді қосуды талап
етпейтін, тез өсетін
микроорганизмдерді бөлу үшін
өсірудің тұрақтанған
параметрлерінде көмірсулармен
бірге ортада ұзақ үздіксіз
культивирлеумен сәйкес элективті
культивирлеу әдісі қолданылады.**

Көмірсутегінде әр түрлі микроорганизмдердің өсуін зерттеу жеке топтардың өзіндік арнайы ерекше қатарын тудырады. Мицелиялы саңырауқұлақтарды көмірсутегі ортада түптік культивирлеуде, ортаны араластыру кезінде мицелиямен көмірсутегі бөлшектерінің әлсіз қатынасынан қиындайды. Көптеген микробактериялар көмірсутегі ортада өсу кезінде агглютинацияға қабілетті капсуламен жабады.

**Осының нәтижесінде диаметрі
бірнеше миллиметрге жететін
жасушаның көбеюі пайда болады.
n-алкандарда өсірілген сапрофитті
микобактериялардың,
липидтердің құрамында болатын
улы компоненттер олардың
биомассасын азықтық қоспа
ретінде қолдануға рұқсат етпейді.**

**Метанды орталарда және басқада газ
тәрізді көмірсутектерде
микроорганизмдердің өсуін зерттеу
нәтижелері мұндай субстраттар
бактерия биомассасының биосинтезі
үшін перспективті болуы мүмкін
екендігін көрсетті. Культивирлеудің
аппаратуралы- қондырғымен өрнектеу
қосымша қиыншылықтармен
ерекшеленеді.**

Микробиологиялық синтез үшін қажетті C_{10} - C_{27} н-парафиндерді (сұйық н-парафин) деп атайды.

Мұнай өндіретін зауыттарда мұнай фракцияларына тиісті екі әдіс арқылы алады: карбамид көмегімен депарафинизациялау (мочевина) немесе цеолитте адсорбциялау әдісі арқылы (молекулярлы тор) өндіреді.

**Парафинді мұнай
фракциясынан карбомид СО
(NH₂)₂ көмегімен бөлу, оның
парафинмен қосылып қатты
комплекс түзетіні негізделген,
құрылысы қалыпты парафин,
мұндай комплексті
изоқұрылысты парафинге
қарағанда оңай түзіледі.**

Алынған карбамид комплексін Н-парафиндермен бірге сұйық фазадан (фильтр немесе центрифугалап) бөледі, (ыстық сумен), парафиндерді бөледі, ал карбамидті қайта қолдануға жібереді. Карбамидті парафиндеу әдісі өте қарапайым, бірақ бөліп алынған парафиндердің құрамында 10%-ге дейін изопарафиндер мен ароматты көмірсулар болады.

**Жоғары сатыда тазартылған
қалыпты құрлыстағы
парафиндердің молекулярлы
торлары – цеолиттерде селективті
адсорбция әдісімен алынады. Бұл
әдіс цеолиттің молекулалар
мөлшері цеолит саңылауының
диаметрінен кіші болатын
заттарды адсорбциялау
қабілеттілігіне негізделген.**

Н- парафиндерді алу процесі үш адсорберден тұратын «Парекс» қондырғысында жүзеге асырылады. Әр адсорберде адсорбцияның үрлеудің және десорбцияның сатылары тізбектеліп жүреді. Тазартылған н – парафиндерді «Парекс» қондырғысында қайнауы басында 200°C -ден кем емес және қайнаудың соңы 320°C температурадан жоғары емес, температуралары Н – парафиндердің қосынды құрамы 99%- тан кем емес, ароматты көмірсулардың құрамы – 0,05%- дан кем емес, түссіз және ашық сары сұйықтық түрінде шығарылады.

Ароматты көмірсулар ашытқының өсуіне ингибитор болғандықтан олардың құрамына ерекше көңіл аударылады. Сұйық н – парафиндер микроорганизмдердің өмір сүруінің жақсы тұрақтылығын қамтамасыз ететін салыстырмалы таза және стандартты шикізат болып табылады. Шикізаттың бұл түрі 100 % және қолданылған парафин массасына жақын азықтық ашытқы алуға мүмкіндік береді.

Табиғи газдың негізгі компоненті метан CH_4 болып табылады, оның құрамы 94-98% аралығында болады, алынатын жеріне байланысты. Метаннан басқа табиғи газда белгісіз мөлшерде этан C_2H_6 , пропан C_3H_8 , бутан C_4H_{10} , көміртегі диоксиді CO_2 және азот N_2 қатысады.

Метанды қышқылдандыратын микроорганизмдер табиғатта кеңінен таралған. Олар топырақта, өзен мен көл суларында, шахта сулары мен табиғатта кең таралған. Метанды ассимилирлейтін қабілеті бар бактериялар туысы: *Mycobacterium*, *Pseudobacterium*, *Chromobacterium*, *Brevibacterium*, *Bacillus* және сондай-ақ тағы басқа да микроорганизмдер. Көрсетілген микроорганизмдердің негізгі белгісі көмірсутегінен тек бір көміртегі атомымен барлық жасушалық компоненттерді синтездеу қабілеті бар метан болып саналады.

**Метан негізіндегі биосинтезге аралас
культураларды пайдалану үлкен
қызығушылық туғызуда. Кейбір таза
культуралар метанды
қышқылдандырмайтын
бактериялармен қосылып метанды
қышқылдандырады. Аралас
культуралар популяциядан бөлініп
алынған және таза культуранарға
қарағанда, метанды активті
ассимилирлейді.**

Табиғи газда культивирлеу арқылы алынған бактерия биомассасы тазалығы жоғарғы деңгейде ерекшеленеді және сапасы бойынша көмірсулар мен Н-парафиндерден алынған азықтық ашытқылардан кем емес. Оның құрамында 65% ақуыз бар, жануарлардың организміне қажет барлық аминқышқылдары және В тобының витаминдері де бар.