

Тағам биотехнологиясының заманауи тенденциялары

Дәріс №3

Тақырып: Микробтық синтез өнімдерін өндірудің жалпы биотехнологиялық схемасы

Биотехнологиялық өндіріс процестері әртүрлі, бірақ олардың барлығында бес негізгі жалпы кезең бар, олар мақсатты өнім мен оны алу әдісіне байланысты өзгеруі мүмкін. Негізгі кезеңдер мыналар: қоректік ортаны дайындау; себу материалы алу; микроорганизмдерді өсіру; мақсатты өнімді бөліп алу; мақсатты өнімді тазарту. Жалпы биотехнологиялық схема микробтық синтез өнімдерін өндіру туралы 3.1-суретте көрсетілген.

3.1 Қоректік ортаны дайындау

Қоректік ортаның құрамын нақты микроорганизм түрі үшін оңтайландыруды жүзеге асыратын маманның міндеті – көміртек, азот, фосфор және басқа заттардың экономикалық және экологиялық тұрғыдан ең тиімді көздерін таңдау.

Қоректік ортаны құру принциптері. Биотехнологияда қолданылатын әрбір микроорганизм түрі қоректік заттарға өте таңдамалы. Микроорганизмнің белгілі бір қосылыстарға қажеттілігі осы түрдің физиологиялық ерекшеліктерімен анықталады, бірақ барлық жағдайларда орта осы заттардың судағы ерітіндісін қамтамасыз етіп, клеткаға қажетті мөлшерде жеткізуі тиіс.

Физиологиялық қажеттіліктерді анықтау үшін микробтық клетканың химиялық құрамын қарастыруға болады. Бірақ бұл жағдайда клетка сыртқа шығаратын метаболиттердің мөлшері мен құрамы және микроорганизмнің клеткалық затының құрамы қоршаған орта құрамына байланысты өзгеретінін ескеру қажет. Дегенмен, микроорганизм клеткаларының құрамы негізінде қоректік ортаның оптималды құрамын таңдауда бастапқы бағдарлама жасауға болады.

Қоректік ортаны дайындаудың маңызды шарттарының бірі – асептика ережелерін сақтау. Қоректік орталарды дезинфекциялау үшін химиялық әдістер (дезинфекция), температуралық әсерлер және басқа физикалық факторлар (ультрадыбыстық, ультракүлгін сәулелер, ультрафильтрация) қолданылады. Әр әдіс өте таңдамалы. Биотехнологияда қоректік орталарды термиялық әдістермен дезинфекциялау кеңінен қолданылады (автоклавтау, стерилизация, қайнату және т.б.). Микроорганизмдердің споралары жоғары температураға төзімді болғандықтан, споралар бактериялардың стерилизация температуралық режимдерін анықтайтын шектеуші фактор болып табылады.

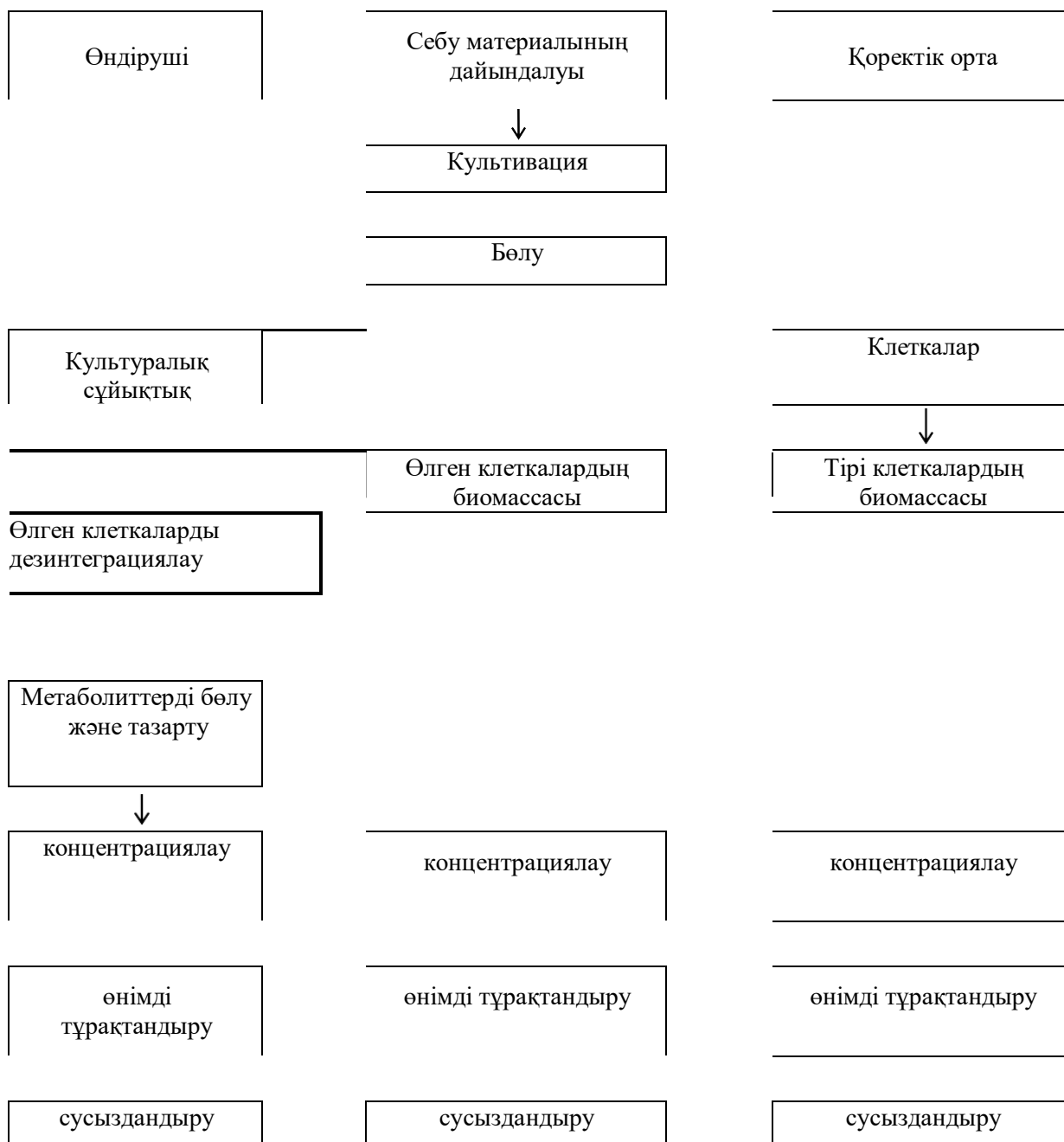
Аэробты өсіру процестері кезінде ауа стерилизациясы үшін фильтрация және ультракүлгін сәулелену қолданылады.

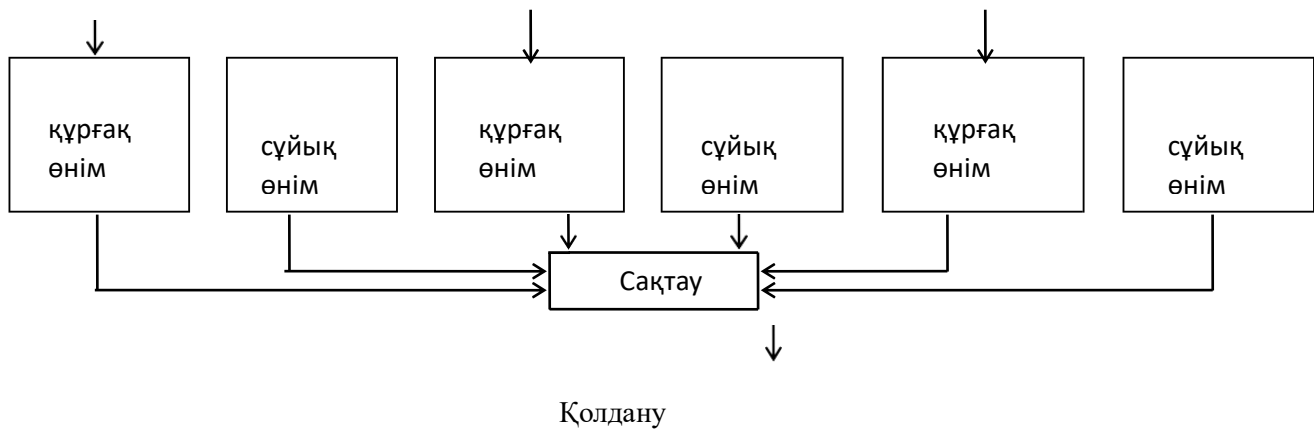
3.2 Себу материалын алу

Штамм-продуценттің таза мәдениетін сақтау – биотехнологиялық өндірістің негізгі міндеті. Микроорганизм- продуценттердің мәдениеттері коллекциялардан агаризделген қоректік орталардағы түтіктерден немесе ампулалардан алынады. Таза микроорганизм мәдениеті өндірісте тұрақты немесе қажет болған жағдайда қолданылуы мүмкін. Ұзақ сақталу кезінде таза мәдениеттерде кездейсоқ реттелмейтін

мутациялар болуы мүмкін. Мутацияларды болдырмау үшін, бастапқы мәдениетті және оның тазалығын сақтау ережелерін ғана емес, сонымен қатар мәдениетті уақытында қайта себу және оның біртектігін морфологиялық және физиологиялық белгілері бойынша тексеру қажет.

Себу материалы (инокуламент) деп таза микроорганизм мәдениетін айтады, оны түтіктен колбаға, одан кейін көлемі ұлғайған аппараттарға кезекпен сеуіп алады, нәтижесінде өндірісте қажетті көлемге жетеді. Алдымен таза мәдениет зертханада көбейтіледі, кейін таза мәдениеттер мен инокуляция цехында көбейтіледі, содан соң өсіру үшін бағытталады.





Сурет 3.1 Микробтық синтез өнімдерін өндірудің принципіалды биотехнологиялық схемасы

Посев материалын дайындау бірнеше кезеңнен тұрады:

1. Өндіріс заводының микробиологиялық зертханасында микроорганизмдер культураларын алу.
2. Микроорганизмдерді кішігірім посев аппаратында өсіру.
3. Микроорганизмдерді үлкен посев аппаратында өсіру.
4. Микроорганизмдер мәдениетін кішігірім ферментаторда жинақтау.

Таза мәдениеттерді бір аппараттан екінші аппаратқа беру логарифмдік өсу фазасының соңында жүзеге асырылады. Алынған посев материалының сапасын микроскопия арқылы бақылайды.

Биотехнологияда кеңінен қолданылатындар: зең саңырауқұлақтары, ашытқылар, актиномицеттер (спора түзбейтін грампозитивті бактериялар), бактериялар және су балдырлары таза және аралас мәдениеттер түрінде. Дәстүрлі ферментациялық процестерде аралас мәдениеттерге басымдық беріледі, ал қазіргі заманғы көпшілік ферментациялық процестерде – мономәдениеттерге (таза мәдениеттер) асептикалық жағдайларда өсіріледі. Қазіргі кезде қолданылатын мәдениеттердің көпшілігі табиғи көздерден алынған, бірақ кейінірек бұл мәдениеттер жоғары өнімділікті биомассаны және алғашқы метаболиттерді алу үшін өсіру жағдайларының ерекшеліктерімен немесе мутагенез немесе генетикалық инженерия арқылы жетілдірілген.

3.3. Ферментация (культивирлеу)

Бұл биотехнологиялық өндірістің ең маңызды және ұзақ кезеңі.

Ферментация – алдын ала дайындалған және термостатталған қоректік ортаға посев материалын енгізуден бастап, қоректік заттардың ортадан таусылуына байланысты өсу және биосинтез процестерінің аяқталуына дейінгі операциялар жиынтығы. Ферментацияның екі негізгі түрі бар: микроорганизмдердің биомассасын

алу және өсудің немесе мәдениеттің кейінгі кезеңдерінде пайда болатын құнды заттар (метаболиттер) алу.

Есіңізде болар, кез келген мәдениетті өсіру үшін қажет: өміршең посев материалы; энергия мен көміртегі көздері; биомассаны синтездеу үшін қоректік заттар; өсу ингибиторларының жоқтығы; сәйкес физико-химиялық шарттар.

Қоректік ортада рН және температураның оңтайлы мәндері мен қажет көлемдегі ауа жеткізілуі кезінде микроорганизмдер тез өсіп, көбейе бастайды, нәтижесінде өндірушінің биомассасы және биологиялық тұрғыдан құнды метаболиттер культуралық сұйықтықта жиналады. Ферментация әдістері бұрынғы бөлімде қарастырылған.

Микроорганизмдерді өнеркәсіптік көлемде өсіру үшін ферментаторлар (немесе ферментаторлар) қолданылады – микроорганизмдер белгілі бір жағдайларда болатын реакциялық ыдыстар. Ферментатордың негізгі мақсаты – микробтық жасушаларды қажетті қоректік заттармен және оттегімен (қажет болған жағдайда) уақтылы қамтамасыз ету, метаболизм өнімдерін алып тастау, орта құрамын біркелкі сақтау, әсіресе үздіксіз культивирлеу жағдайында (жұқа ағыммен). Оттегі режимін қолдау үшін ферментатор ауаны жеткізу құрылғысымен жабдықталады, орта араластыру үшін әртүрлі конструкциялы араластырғыштар қолданылады. Температураны бақылау үшін салқындату жүйелері қарастырылған.

3.4. Мақсатты өнімді алу

Өнімді алу кезеңі өнімнің жасушаларда жинақталуына, культуралық сұйықтыққа бөлінуіне немесе өнімнің өзі жасушалық массасы екеніне байланысты. Биомассаны және культуралық сұйықтықты бөлу – сепарация бірнеше әдіспен жүзеге асырылады.

Егер мақсатты өнім – жасушалар биомассасы болса, онда келесі әдістер қолданылады: тұндыру, фильтрация, флотация, сепарация және т.б. (механикалық әдістер); буландыру және кептіру (физикалық әдістер).

Фильтрация – қатты бөлшектер мен сұйықтықты бөлудің қарапайым және кең таралған процесі, жылдамдығы фильтрациялық материалдың пористілігіне және қысымға байланысты. Вакуумдық насостар көмегімен фильтрация процесті едәуір жылдамдатады.

Флотация ашытқы жасушаларын бөлу үшін қолданылады. Жасушаларды флотациялау процесі культуралық сұйықтықты көбікпен өңдеу арқылы жүзеге асырылады. Көбіктен жасушалардың негізгі массасы жойылады.

Сепарация сепараторларда жүзеге асырылады, онда жасушаларға центробежді күш әсер етеді, жасушаларды ыдыстың перифериясына жібереді, ал культуралық сұйықтық сепаратордың ортасында жиналады. Бұл процесс ауырлық күшінің әсерінен жасушаларды тұндырудан әлдеқайда жылдам жүреді.

Егер мақсатты өнім жасушаларда болса, онда жасушаларды бұзу – дезинтеграция – физикалық, химиялық және ферментативті әдістермен жүргізіледі.

Физикалық әдістерге ультрадыбыстық бұзу, мұздату-ерітуден кейінгі бұзу, баллистикалық дезинтеграция жатады. Баллистикалық дезинтеграция жасушаларды

ұсақтау және қосымша ұсақтаушы заттарды қолдана отырып, ұнтақтағыштарда жүзеге асырылады: құм, шыны немесе полимер шариктері.

Химиялық әдістерге – жасушаларды толуол, бутанол және басқа химиялық қосылыстармен бұзу жатады.

Ферментативті дезинтеграция кезінде жасушалық қабықшалардың белгілі бір құрылымдық компоненттерін бұзатын ферменттер қолданылады. Мысалы, бактериялық жасушаларды бұзу үшін тауық жұмыртқасының лизоцимдері, бактериялар, актиномицеттер немесе саңырауқұлақтар қолданылады. Ашытқы және зең саңырауқұлақтарын бұзу үшін фосфоманааза және бета-глюконаза немесе автолиз пайдаланылады. Автолиз – ашытқы немесе зең саңырауқұлақтарының өз гидролитикалық ферменттерінің әсерінен бұзылуы. Бұл үшін жасушалар суспензиясын 35-45°C температурада инкубациялайды.

Өнімді культуралық сұйықтықтан немесе бұзылған жасушалардың гомогенатынан алу үшін тұндыру, экстракция, кристаллизация немесе сорбция әдістері қолданылады.

Тұндыру – ерімейтін тұздарды химиялық тұндырғышты эквимолярлық мөлшерде қосу арқылы жүзеге асырылады. Бұл әдіс лимонды, сүт қышқылын алу кезінде қолданылады.

Экстракция – мақсатты өнімді сіңіретін экстрагент (еріткіш) қосу арқылы жүзеге асырылады. Содан кейін эмульсия бөлініп, мақсатты зат алынады. Бұл әдіс витаминдер мен антибиотиктер алуда қолданылады.

Кристаллизация – алдын ала өңделген культуралық сұйықтықты салқындату арқылы кристаллизациялау. Бұл әдіс глутамин қышқылы, итакон қышқылы және басқа қышқылдарды алу үшін қолданылады.

Содан кейін алынған өнімді центрифугалау, ультрафилтрация, буландыру немесе кері осмос арқылы концентрлейді.

Центрифугалау – центрифугалық күш әсерімен ауырлықты бөлшектерді тұндыру және үстіңгі сұйықтықты бөлу.

Ультрафилтрация – ерітіндіні белгілі порлы мембраналық сүзгілер арқылы өңдеу (яғни молекулалық өлшемдер бойынша заттарды фракцияларға бөлу). Бұл ферменттер мен басқа белоктарды алу үшін қолданылады.

3.5 Мақсатты өнімді тазарту

Бұл кезең тазартылған мақсатты өнім алу үшін қажет, мысалы, тазартылған ферменттік препараттар екі еседен астам тазартылу дәрежесімен. Бұл кезең алынатын мақсатты өнімнің өзіндік құнын арттырады.

Ферменттерді тазарту үшін таңдамалы сорбция (байланыстыру) әдістері қолданылады, мысалы, каолин, кальций трифосфаты, алюминий гидроксиді және басқа адсорбенттерді пайдалану арқылы. Осылайша, фермент немесе балласты белоктар сорбцияланады, кейінірек центрифугалау арқылы бөлінеді. Ферментті адсорбенттен фосфатты буфер ерітіндісімен бөледі.

Соңғы кезеңде өнім қоспалардан бөлініп, концентрленеді және стабилизацияланады. Өнімді стабилизациялау аяқталғаннан кейін, соңғы өнімнің қандай болуы керек екеніне байланысты: құрғақ немесе сұйық, оны

дегидратациялайды немесе дереу қаптап, сақтау үшін жібереді және кейін тұтынушыға жеткізеді.

Өзін-өзі тексеру сұрақтары:

- 1) Микробтық синтез өнімдерін алу биотехнологиялық схемасының негізгі кезеңдерін атаңыз.
- 2) Микроорганизмдердің қоректік заттарға физиологиялық қажеттіліктерін қалай анықтайды?
- 3) Биотехнологиялық өндірісте қоректік орталарды стерильдеу үшін қандай әдістер қолданылады?
- 4) Өнеркәсіптік мақсатты өнім өндірісі үшін посев материалын алу тәртібін сипаттаңыз.
- 5) Ферментатордың негізгі мақсаты қандай?
- 6) Мақсатты өнімді алу кезеңі қандай факторларға байланысты?
- 7) Жасуша биомассасын культуралық сұйықтықтан бөлу үшін қандай әдістер қолданылады?
- 8) Дезинтеграция дегеніміз не және ол қашан жүзеге асырылады?
- 9) Жасушаларды дезинтеграциялаудың негізгі әдістері туралы айтыңыз.
- 10) Сепарация мен центрифугалаудың айырмашылығы неде?
- 11) Мақсатты өнімді тазарту кезеңі қандай жағдайларда жүзеге асырылады?
- 12) Сорбция дегеніміз не?