

Конспект лекцій
з дисципліни

ЕКОТЕХНОЛОГІЯ БІОВИРОБНИЦТВА

Тема 1 Предмет біотехнології, завдання, методи й перспективи розвитку

- 1 Предмет біотехнології.
- 2 Розвиток біотехнології .
- 3 Перспективи розвитку біотехнології.
- 4 Використання біотехнологічних процесів у різних галузях народного господарства.

1.Предмет біотехнології

Біотехнологія - наука про способи створення біологічно активних речовин на основі живих організмів (продуцентів) і використанні біологічних об'єктів та біологічних процесів у техніці і промисловому виробництві. Навіть сьогодні хімікам не вдається створити каталізатори, що перевершують по своїй ефективності й специфічності біологічні каталізатори (ферменти). Слід зазначити, що людина використала біотехнологію багато тисяч років: пивоварство, випічка хліба, зберігання й переробка продуктів шляхом ферментації (сир, оцет, соус, мило, найпростіші ліки, переробка відходів). Розробка методів генної інженерії, заснованих на створенні рекомбінантних ДНК, привела до "біотехнологічного буму" і значно прискорила розвиток основних галузей біотехнології. В 50-60-х роках ХХ століття стали інтенсивно розвиватися багато напрямків біотехнологічної промисловості: сільське господарство, виробництво хімічних речовин, енергетика, контроль за станом навколишнього середовища, харчова промисловість, матеріалознавство, медицина.

Біотехнологія – це сукупність технологій, що передбачають використання живих організмів та біологічних процесів у промисловому виробництві.

Об'єктами біотехнології є переважно бактерії, дріжджі, гриби, віруси, клітини рослин і тварин, біологічно активні речовини спеціального призначення тощо.

Методами біотехнології є поверхневе, глибинне культивування в періодичному та безперервному режимах; вирощування рослинних і тваринних клітин в особливих умовах.

Здебільшого біотехнологічні процеси проходять в асептичних умовах.

Екологічна біотехнологія – це специфічне використання біотехнології для вирішення проблем охорони навколишнього природного середовища.

На Третньому з'їзді Європейської асоціації біотехнологів у 1984 р.

історію біотехнології було поділено на п'ять періодів:

- допастерівська (до 1865 р.);
- післяпастерівська (1866 – 1940 рр.);

- антибіотиків (1941 – 1960 рр.);
- керованого біосинтезу (1961 – 1975 рр.);
- нової біотехнології (після 1975 р.).

Інтенсифікація сільського господарства, бурхливий розвиток промисловості, транспорту призвели до диспропорцій у навколишньому середовищі, деформації встановленої рівноваги екосистем, погіршення екологічної ситуації в усіх сферах діяльності людини. Екологічна біотехнологія може допомогти у вирішенні багатьох екологічних проблем.

Використання досягнень науки в біотехнології пов'язане з фундаментальними дослідженнями, які здійснюються на найвищому сучасному рівні. Можна перелічити найважливіші галузі науки, які внесли й вносять великий вклад у здійснення того або іншого біотехнологічного процесу: мікробіологія, генетика, біохімія, хімічна технологія, технологія харчової промисловості, електроніка й ін. Розвиток окремих перспективних розділів біотехнології здійснюється при тісному міжнародному співробітництві фахівців, учених і технологів.

Наприклад: в області генної інженерії лише деякі наукові колективи у світі мають достатній досвід роботи, але їхні розробки швидко стають надбанням світової наукової громадськості. Виникнення сучасної біотехнології було б неможливо й без успіхів у розробці інструментальних методів досліджень, заснованих на використанні найсучасніших приладів як вітчизняного, так і закордонного виробництва. У будь-якому біотехнологічному процесі необхідно обов'язкова участь і взаємодія між собою **мікроорганізмів** (бактерії, гриби, дріжджі й т.д.) **із субстратом** (живильне середовище або речовина, що розкладається тим або іншим мікроорганізмом).

Сучасна промислова біотехнологія включає чотири основних стадії:

1 - вибір штаму мікроорганізму, що володіє підвищеною продуктивністю;

2 - підбір живильного, середовища забезпечуючий оптимальний біосинтез цільового продукту;

3 - культивування клітин-продуцентів (створення оптимальних умов за допомогою автоматизованого керування процесом):

4 - виділення цільового продукту, його обробка, очищення, одержання товарної форми цього продукту. Сам термін "біотехнологія" не відразу став загальноприйнятим. Слово "біо"- у перекладі із грецького "життя". "Технологія"- спосіб, метод індустріального виробництва. Для використання найбільш тісно пов'язаних з біологією різноманітних технологій застосовували такі терміни, як прикладна мікробіологія, прикладна біохімія, технологія ферментів, біоінженерія, прикладна генетика й т.д.

Наші предки мали деякі знання про процеси, що лежать в основі різних технологій та протягом тисячоліть успішно використали метод

мікробіологічної ферментації для збереження їжі: одержання сиру, оцту, поліпшення смаку, випічка хліба й готування соєвого соусу, виробництво спиртних напоїв. Найбільш древня й у цей час важлива в грошовому еквіваленті галузь харчової промисловості - **пивоварство**. Перший рецепт пива був виявлений 6000 років до нашої ери в древньому Вавилоні. А 3000 років до н.е. було відомо близько 20 сортів пива. У цей час в усім світі щорічно виробляється близько 10^{11} - 10^{12} літрів пива різних сортів і найменувань. Завдяки працям Л. Пастера наприкінці ХІХ століття були створені реальні передумови для подальшого розвитку прикладної мікробіології. Пастер установив, що мікроби відіграють ключову роль у процесах шумування, і показав, що в утворенні окремих продуктів беруть участь різні їхні види. Його дослідження послужили основою розвитку на початку ХХ століття бродильного виробництва органічних розчинників (ацетону, етанолу, бутанолу й ізопропанолу). У всіх цих процесах мікроби в бескисневому середовищі здійснюють перетворення вуглеводів рослин у корисні продукти. Як джерело енергії для росту мікроби в цих умовах використовують зміни ентропії при перетворенні речовин. Значним етапом у розвитку біотехнології була організація промислового виробництва антибіотиків. Підставою для цього послужило відкриття в 1940 р. Флемінгом, Флори й Чейном хіміо-терапевтичної активності пеніциліну. Як відомо, даний антибіотик і його виробництво займають одне із провідних місць у медичній біотехнології до тепер.

Використання мікроорганізмів при переробці відходів не вимагає створення стерильних умов, навпроти, чим більше різних мікроорганізмів бере участь у даному процесі, тим краще. Процес мінералізації органічних відходів, заснований на використанні мікроорганізмів активного мулу, був розроблений в 1914 році. З тих пір він істотно модернізований, став більш складний і продуктивним та використовується в усьому світі для переробки стоків. Переробка стоків в анаеробних умовах змішаною мікрофлорою викликає попутне утворення біогазу (метан і CO_2), що використовується як дешева енергія. Одне з перших місць по виробництву біогазу займає Китай (близько 20 мільйонів генераторів біогазу). В останні роки застосовуються невеликі установки, призначені для переробки відходів сільського господарства. Найбільше інтенсивно біотехнологічна промисловість стала розвиватися після другої світової війни. Поштовхом до її розвитку послужили наступні відкриття:

Уотсон і Лемент в 1953 році встановили просторову структуру ДНК.

Завдяки роботам Сэнгера по структурі білків (структура інсуліну), а також Едмана й Бегга (1967 р.) по деградації білків, з'явилися прилади автоматичного визначення структури білків (послідовності амінокислот, 1978 р.).

В 1980 році в Каліфорнійському університеті був сконструйований сиквенатор білків, що міг визначати послідовність більше 200 амінокислот

у день. За встановленою структурою ДНК почали вести синтез біополімерів.

В 1977 р. у медичному національному центрі "Хоуп " (Каліфорнія) синтезований ген соматостатіна (вчений Ітакура); в 1979 р. - ген інсуліну людини; в 1980 р. - Ітакура створив синтезатор генів.

2. Розвиток біотехнології в СНД

В 1986 році створене Міністерство медичної й мікробіологічної промисловості. СРСР була єдиною країною у світі, де налагоджене промислове виробництво білка одноклітинних організмів (БОО), що представляв собою суху біомасу дріжджів *Saecharomyces cerevisiae*. Обсяг виробництва цього білка в рік становив 1 мільйон тонн, причому 40% на основі використання як субстрат гідролізатів деревини й 60% - нормальних парафінів нафти. З'явилися нові напрямки, що розвиваються на основі біотехнології, і продукти, одержувані з її допомогою.

За останні 30-40 років одержало широке поширення виробництво амінокислот в аеробних мікробіологічних процесах. У найбільшій кількості вироблялися такі амінокислоти, як глутамат натрію (щорічне виробництво у світі становило більше 150 тисяч тонн), використовуваний як підсилювач смаку. Другою амінокислотою був лізин, що використовувався як харчова добавка. В 1985 році в СРСР вироблялося приблизно 20 тисяч тонн лізіна. Використання 1 тонни лізіна в складі комбікорму заощаджує 40 - 50 тонн фуражного зерна. У СРСР успішно розвивалася біотехнологія антибіотиків, і в 1988 році СРСР займала 2-і місце у світі по їхньому виробництву після США. У цей час у багатьох країнах світу, у тому числі й країнах СНД, створена й швидко розвивається мікробіологічна промисловість. Продуктами цієї промисловості є антибіотики, амінокислоти й нуклеозиди, ферменти, біологічні засоби для боротьби з комахами (інсектициди), кормовий білок, вітаміни, етиловий і бутиловий спирти, ацетон, полісахариди, бактерії-азотфіксатори, бактерії-бідеструктори шкідливих речовин і т.д. Велике поширення мікробіологічні процеси знайшли при видобутку металів з бідних руд, для збільшення виходу нафти із шарів.

Розробка методів генної інженерії дозволила налагодити мікробіологічне виробництво цінних білків для людини й сільськогосподарських тварин (інтерферон, гормон росту й т.д.). У СРСР перші роботи з рекомбінантними ДНК були початі в 70-х роках минулого сторіччя. Центром вітчизняної генної інженерії була Москва (інститут молекулярної біології, інститут біоорганічної хімії, інститут вірусології). Під керівництвом академіка Баєва А.А. були створені бактеріальні штами продуценти інтерферону, інсуліну, гормону росту людини; проведені клінічні випробування препаратів.

Більші дослідження в області генної інженерії в першій половині 80-х років були проведені в Новосибірську, Володимирі й інших регіонах. Мікробна клітина - це "зроблений біоагрегат". Однак для більшості промислових завдань генетична програма клітини повинна бути перебудована таким чином, щоб направити біосинтетичний потенціал клітини на виробництво необхідного продукту, а не на безперервне самовідтворення. Навіть у тих випадках, коли ставиться мета простого одержання біомаси (кормовий білок), можуть знадобитися зміни властивостей, що поліпшують технологічні параметри процесу, що підвищують конверсію субстрату в продукт і так далі. Питаннями вдосконалювання промислових мікроорганізмів традиційно займаються мікробіологи - селекціонери.

Слово "селекція" (від лат. *selectio*) означає відбір. Дійсно, протягом тривалого часу й у наші дні для маловивчених з погляду генетики мікроорганізмів єдиним способом їхнього поліпшення є індукований мутагенез і східчастий відбір кращих варіантів (штамів). Метод трудомісткий, тому що відбір, як правило, проводиться без детального знання шляхів біосинтезу. Селекційні роботи такого роду можуть забирати тривалий час (роки). Проте, практика показує, що багаторічна селекція штамів - продуцентів пеніциліну дозволила підняти активність від 100 до 40 000 одиниць/моль і більше.

Завдання створення високопродуктивних штамів набагато спрощується, якщо селекціонер має досить знань про шляхи біосинтезу того або іншого метаболіту і є способи генетичного обміну досліджуваного мікроорганізму, що дозволяють зібрати в одному штамі всі корисні мутації й елімінувати(знищити) всі шкідливі.

Пізнання молекулярних механізмів реплікації ДНК, транскрипції й трансляції, регуляції активності й експресії генів, дало можливість на сучасному етапі розвитку біотехнології свідомо конструювати штамми мікроорганізмів із заданими властивостями. Застосування названих підходів у сполученні із застосуванням класичної селекції й становить суть сучасної селекції мікроорганізмів, що беруть участь у тому або іншому біотехнологічному процесі.

3. Перспективи розвитку біотехнології

Завдяки розширенню сфери свого застосування біотехнологія робить вагомий внесок у підвищення рівня життя людини. Сфера застосування методів біотехнології широка й різноманітна:

1. процеси біосинтезу й біодеградації;
2. вуглецьвмісна сировина для хімічної промисловості;
3. хімічна переробка (очищення продукту);

4. хімічні продукти, що використовуються в побуті: клеї, барвники, волокна, смакові добавки, загущувачі, запашні речовини, пігменти, пластики, змащувачі й т.д.;

5. джерела енергії;

6. контроль за станом навколишнього середовища (повітря, вода, ґрунт)- біоіндикація;

7. їжа й напої (сільськогосподарське виробництво й переробка);

8. охорона здоров'я (діагностика, лікування), боротьба із хворобами рослин і тварин;

9. видобуток мінеральної сировини на суші й на морі.

По аналізі фахівців швидше всього застосування біотехнології дає гарні результати в медицині, хімічній промисловості й сільському господарстві. Надалі ми докладніше зупинимося на окремих біотехнологічних процесах у вище перерахованих галузях народного господарства.

4. Використання біотехнологічних процесів у різних галузях народного господарства. Харчові продукти й напої

Біотехнологію використовують в таких основних напрямках

| Метод | Сфера застосування або субстрат | Суть методу |
|---|---------------------------------|--|
| Створення безвідходних технологічних процесів | Охорона здоров'я і ветеринарія | Отримання з відходів корисних продуктів або знешкодження їх |
| Створення препаратів для боротьби зі збудниками хвороб людини та тварин | Сільське господарство | Створення засобів для діагностики, імуностимулятори, вакцини, антибіотики тощо |
| Створення рослин, стійких до хвороб та шкідників | Сільське господарство | Отримання рослин, при вирощуванні яких відпадає необхідність використання отрутохімкатів |
| Біологічні методи боротьби з хворобами і шкідниками рослин | Сільське господарство | Селективне знищення спеціальними біологічними препаратами шкідливих комах, гризунів чи збудників хвороб |
| Бактеріальні добрива, стимулятори росту рослин | Сільське господарство | Посилення біологічної фіксації атмосферного азоту, мобілізації фосфору; прискорення росту органів рослин; зниження потреб у мінеральних добривах |
| Створення рослин, здатних фіксувати атмосферний азот без участі мікроорганізмів | Сільське господарство | Перенесення у геном рослин генів від мікроорганізмів, що визначають фіксацію |
| Аеробне біоочищення стоків | Комунальні та виробничі стоки | Утилізація органічних речовин стоків активним мулом у присутності кисню |

| | | |
|--|---------------------------------------|---|
| Анаеробне біоочищення стоків | Комунальні та виробничі стоки | Утилізація органічних речовин анаеробним мулом з утворенням біогазу |
| Селективна утилізація хімічних сполук стоків | Промислові стоки | Утилізація токсичних речовин спеціально адаптованими культурами мікроорганізмів |
| Кероване компостування твердих відходів | Сільське господарство, міські звалища | Біологічна деструкція частини компонентів відходів з утворенням компосту |
| Детоксикація хімічних забруднень ґрунтів | Ґрунт | Утилізація шкідливих сполук мікробіологічною обробкою ґрунтів |
| Біосорбція металів | Стоки | Селективна сорбція у спеціальних біофільтрах металів зі стоків мікроорганізмами |
| Біологічне очищення викидів | Газоподібні викиди | Використання мікроорганізмів для деструкції забруднень викидів |
| Діагностика ступеня забруднення середовища | Стоки, ґрунт, повітря | Контроль присутності певних речовин у середовищі за допомогою ферментів |
| Виробництво енергії з біомаси | Народне господарство | Виробництво біогазу за допомогою метанового бродіння |
| Клонування | Живі організми | Відновлення чисельності популяції |

Традиційні способи використання мікроорганізмів при виробництві різних сортів пива, вина й зброжених продуктів вдосконалювались тисячоріччями, і все-таки донедавна в них було більше мистецтва, чим технології. Тільки з розвитком мікробіології стало можливим контролювати якість продуктів, процеси ферментації стали більш надійно відтвореними, з'явилися нові типи продукції (наприклад, смакові добавки).

Найбільш успішними представляються два взаємозалежних напрямки розвитку цієї галузі біотехнології:

Перший: на зміну традиційним способам виробництва їжі поступово прийдуть біореактори, у яких будуть рости клітини тварин і рослин або ж мікроорганізми. Справа в тому, що вихід продукції при використанні ферментів або біореакторів може бути істотно вище, ніж у сільському господарстві: процеси, що йдуть у них, набагато більш інтенсивні. Розвитку цього напрямку сприяє й всеї зростаюча конкуренція за наявні земельні ресурси.

Другий: альтернативна технологія буде ставати усе більше продуктивною завдяки використанню методів генетичної інженерії, які дозволяють одержати поліпшені лінії клітин і штамів мікроорганізмів.

Медицина

Завдяки застосуванню технології рекомбінантних ДНК були досягнуті великі успіхи в медицині. Розроблено ефективні методи промислового виробництва інтерферону людини (гени людини клоновані в мікроорганізмах). Крім гена інтерферону були клоновані гени інсуліну й

гормону росту людини. З метою великомасштабного виробництва були клоновані гени багатьох інших білків людини й тварин, необоротні для діагностики й лікування.

Велике значення має й розробка методів виробництва моноклональних антитіл. Моноклональні антитіла використовуються в наборах для проведення радіоіммунологічного аналізу (RIA), діагностики, імунодіагностики й терапії. Різноманітні зв'язки біотехнології з медициною у виробництві антибіотиків. Антибіотики – це специфічні продукти життєдіяльності певних груп мікроорганізмів, що володіють високою фізіологічною активністю й придушують розвиток патогенних мікроорганізмів. Вони вибірково затримують їхній ріст або повністю придушують розвиток. Найважливішими з них є пеніцилін (продуценти гриба роду *Penicillium*); стрептоміцин (продуценти актиноміцети роду *Streptomyces*); тетрациклін (продуценти актиноміцети роду *Streptomyces*) і ін.

Постійно здійснюється пошук нових антибіотиків, що в значній мірі пов'язане з тим, що наявні можуть викликати алергічні реакції, і виробітком у патогенних мікроорганізмів стійкості до застосовуваних препаратів.

Біотехнологія відкриває медицині нові шляхи одержання цінних гормональних препаратів. Набагато більші досягнення відбулися в напрямку синтезу пептидних гормонів. Раніше гормони одержували із тканин й органів тварин і людини (кров донорів, органи й тканини). Було потрібно багато матеріалу для одержання невеликої кількості гормонального продукту. Так, людський гормон росту (соматотропін) одержували з гіпофіза людини, а кожен гіпофіз містить не більше 4 моль гормону. У той же час для лікування однієї дитини, що страждає карликовістю, потрібно 7 моль гормону в тиждень, а курс лікування може бути до декількох років. За допомогою генної інженерії, використовуючи штам *Escherichia coli* у цей час одержують до 100 моль гормону росту на 1 л середовища культивування. Крім того, гормон саматотропін сприяє загоєнню ран й опіків, а поряд з кальцитоніном (гормон щитовидної залози) регулює обмін Ca^{2+} у кістковій тканині. Для лікування цукрового діабету застосовується інсулін - пептидний гормон острівців Лангерганса підшлункової залози. Це захворювання викликане дефіцитом інсуліну й проявляється підвищенням рівня глюкози в крові. Раніше інсулін одержували з підшлункових залоз свійських тварин (велика рогата худоба, свині). Однак препарат відрізняється від людського інсуліну 1 - 3 амінокислотними замінами й міг викликати в людини алергійні реакції.

За допомогою генної інженерії стало можливим одержувати інсулін для людини з невисокою собівартістю й високою ефективністю терапевтичної дії.

На порядку денному питання про промисловий синтез гормонів нервової системи енкефалінів. Ці гормони знімають болючі відчуття, створюють гарний настрій, підвищують працездатність, поліпшують пам'ять, концентрують увагу, регулюють режим сну.

Значний внесок біотехнологія вносить у промислове виробництво пептидних гормонів і стероїдів. Методи мікробіологічної трансформації дозволили різко скоротити число етапів хімічного синтезу кортизону - гормону надниркової залози, застосовуваного для лікування ревматоїдного артрити.

Є розробки по одержанню гормону щитовидної залози тироксину з мікроводоростей. Важливе значення мають технологічні процеси по виробництву інтерферонів. Інтерферони мають антивірусну активність. У цей час інтерферон успішно одержують із застосуванням генноінженерних штамів мікроорганізмів, культивованих клітин комах і ссавців. Інтерферони використовуються для лікування хвороб, викликаних вірусами герпесу, сказу, гепатиту, а також профілактики вірусних інфекцій, особливо респіраторних.

Великий інтерес викликає біотехнологічне виробництво інерлейкінів. Це порівняно короткі (близько 150 амінокислотних залишків) поліпептиди, що беруть участь в організації імунної відповіді.

Важливе значення в медицині грає вакцинація проти грипу, гепатитів, корі, гострих респіраторних хвороб. Важливим є питання виготовлення вакцин. Вакцинація - один з основних способів боротьби з інфекційними захворюваннями. Шляхом поголовної вакцинації ліквідована натуральна віспа, різко обмежене поширення сказу, сибірської виразки, поліомієліту, жовтої лихоманки й ін. Сучасні біотехнологічні процеси передбачають випуск рекомбінантних вакцин і вакцин антигенів. Вакцини обох типів засновані на генноінженерному підході. Для одержання рекомбінантних вакцин звичайно використовують добре відомий геном вірусу коров'ячої віспи (вісповакцини). У його ДНК вбудовують чужорідні гени, що кодують імунногенні білки різних збудників (грипу, гепатиту, молярійного плазмодію та ін.). Для одержання рекомбінантних ДНК використовують спеціальні вектори на основі плазмід з добре вивченою послідовністю й рестрикційною картою. З'явилася можливість створення полівалентних вакцинних препаратів на основі об'єднання ділянок ДНК різних патогенів під егідою ДНК вірусу вісповакцини.

Сучасна біотехнологія застосовується в одержанні ферментів медичного призначення. Їх використовують для розчинення тромбів, лікування спадкоємних захворювань. Яскравий приклад порятунку життя хворих із тромбозом кінцівок, легенів, посудин серця за допомогою тромболітичних ферментів (стрептокінази й урокінази).

Енергетика

У зв'язку з тим, що запаси викопного палива обмежені, а його споживання росте з року в рік, можлива енергетична криза в багатьох країнах світу. Тому обговорюються перспективи використання ядерної енергії. Близько 99,4 % у рік доступної нам неядерної енергії ми одержуємо від Сонця, і частина її акумулюється в біомасі, хоча й з малою ефективністю, порядку 1-2 %.

Із цієї причини біомаса являє собою постійно поновлюване джерело енергії. Її можна спалювати або досить простими способами перетворювати за допомогою мікроорганізмів у рідке або газоподібне паливо (метан, етиловий спирт, водень). Згодом біомаса буде усе більше використовуватися при виробництві сировини для хімічної промисловості. Останнім часом пробудився інтерес до розробки біопаливних елементів, за допомогою яких можна з високою ефективністю одержувати з ряду видів палива й біомаси електричну енергію. Оскільки сонячне світло є потужним джерелом енергії, а кількість наявної біомаси обмежена, деякі біотехнології, що працюють над проблемами енергії, зайняті розробкою двох проблем, рішення яких дозволило б підвищити ефективність використання сонячної енергії.

Перше: намагаються знайти фактичні способи підвищення ефективності конверсії сонячного світла в біомасу, наприклад, шляхом вирощування водоростей при високій концентрації O_2 й обмеженій освітленості в біореакторах зі строго контрольованими умовами росту.

Друге - вивчається можливість одержання водню шляхом розщеплення води при участі фотосистеми фотосинтезуючих організмів, тобто шляхом біофотолізу. Технічно найпростіше одержувати водень, використовуючи синьо-зелені водорості або процеси ферментації (шумування).

Біотехнологія стала грати все зростаючу роль при видобутку нафти. Передбачається, наприклад, вводити підходящі мікроорганізми безпосередньо в нафтовий шар, щоб прискорити відтік нафти з пористих порід і для видобутку залишкової нафти.

Навколишнє середовище

У міру того, як збільшується населення Землі й розвивається промисловість, усе більш серйозною стає проблема охорони навколишнього середовища. У рішенні такого роду завдань біотехнологія грає все зростаючу роль, зокрема, у тому, що стосується розробки нових або вдосконалення існуючих способів переробки відходів.

Новітні процеси переробки незвичайних відходів ґрунтуються на використанні мікроорганізмів, що володіють новими, невідомими раніше або штучно створеними катаболічними властивостями. Навколишнє середовище є як би загальним знаменником для всіх видів діяльності. Наприклад, розширення використання біотехнології в хімічній промисловості повинне привести до створення нових її галузей, краще

сумісних з навколишнім середовищем. Такі ж надії покладають і на біоінженерію.

Сільське господарство

Застосування біотехнології в сільському господарстві досить широке. Продукція сільського господарства може використовуватися в промисловості, наприклад для виробництва етилового спирту з надлишків низькоякісного вина. Такий підхід одержав подальший розвиток: для виробітку спирту сільськогосподарські культури почали вирощувати спеціально. Більша частина продукції сучасного сільського господарства служить сировиною для розвитку харчової промисловості. Як сировина можуть бути використані й відходи сільського господарства. За допомогою біотехнології розробляються нові способи покращення сільськогосподарських культур як по врожайності, так і по якості. Можна буде використати отримані з її допомогою заміники дорогих хімічних добрив або пестицидів, або ж добавки до них. Так, потреби в азоті вдасться задовольнити шляхом впровадження біологічної фіксації азоту, заснованої на симбіозі, а у фосфорі - шляхом втручання в процеси, що відбуваються в мікоризах. Завданням віддаленого майбутнього є передача здатності до фіксації азоту безпосередньо окремим сільськогосподарським культурам шляхом введення в них гену нітрогенази; у результаті такі рослини придбають здатність до синтезу ферменту, каталізуючого реакцію фіксації азоту. Це дозволить заощадити енергію, затрачувану сьогодні при хімічному синтезі аміаку. По загальній думці, найбільший внесок біотехнології в сільське господарство варто очікувати за рахунок поліпшення властивостей самих рослин шляхом використання методів рекомбінативних ДНК і протопластів рослин.

Хімічні сполуки

Застосування біологічних систем для виробництва хімічних сполук у принципі дає ряд переваг, однак сьогодні лише мале їхнє число одержують за допомогою біотехнологічних процесів. Вони дешеві і широко використовувані в більших кількостях як паливо: етиловий спирт і метан, а також ряд цінних і досить дорогих речовин, що застосовуються в медицині і для харчових цілей (лимонна кислота, амінокислоти, стероїди й антибіотики). Виробництво хімічних речовин на основі біокаталізу має наступні переваги: специфічність, легкість контролю, робота при низьких температурах, сумісність із навколишнім середовищем і простота. Так, хімічна промисловість органічних сполук базується, в основному, на нафті, а більшість продуктів переробки нафти одержують шляхом часткового окислювання сировини. Досягти специфічного контрольованого й часткового окислювання за допомогою існуючих каталізаторів досить складно, а мікроорганізми здійснюють ці типи реакцій без праці.

Існують три головних способи синтезу хімічних сполук на основі біокаталізу:

1. Шляхом використання культур клітин рослин або тварин, що утворюють цінні речовини.

2. Шляхом використання мікроорганізмів, при необхідності змінених методами генетичної інженерії, для біосинтезу або модифікації хімічних речовин;

3. Шляхом використання змінених методами генетичної інженерії мікроорганізмів у якості "пристроїв" для експресії генів рослин і тварин, що дозволяє синтезувати в більших кількостях особливих, властивим тільки вищим організмам хімічні сполуки.

Матеріалознавство

Біотехнологія може вплинути на одержання й використання різних матеріалів щонайменше трьома способами.

По-перше, вона буде сприяти розвитку видобутку промислової сировини, наприклад нафти й інших корисних копалин.

По-друге, усе більш широко стануть використовуватися продукти мікробного походження, наприклад для виробництва мікроорганізмів пластмас, що розкладають із допомогою, емульгаторів і загущуючих речовин.

По-третє, будуть удосконалені способи захисту різних речовин від руйнування їхніми мікроорганізмами.

Найбільш багатообіцяючою сировиною для виробництва біопластмас є одна з резервних речовин клітин, полігідроксibuтират (ПГБ). У цей час у промисловості ведуться активні дослідження, як самої цієї речовини, так і способів його одержання. Досить актуальної й складної з технічної точки зору є проблема біопошкоджень. Біопошкодження є неминучим наслідком найважливішої ролі мікроорганізмів у круговороті елементів у біосфері. Прояви біопошкодження досить різноманітні: від псування харчових продуктів до забруднення мастил і паливних систем, руйнування бетону й розвитку електрохімічних процесів корозії під впливом мікроорганізмів. Біотехнологія допоможе створити нові методи боротьби з біопошкодженнями завдяки більш глибокому розумінні лежачих у їхній основі процесів. На цій базі можуть бути створені нові біотехнологічні процеси. Прикладом такого роду служить використання ферментів у харчовій промисловості.

Питання для самоконтролю:

1. Що таке біотехнологія?
2. З якими галузями науки тісно зв'язана біотехнологія?
3. Роль Пастера в розвитку прикладної мікробіології?
4. Відкриття хіміотерапевтичної активності пеніциліну.
5. Одержання білка одноклітинних організмів.

6. Технологія одержання ферментів.
7. Перспективи розвитку біотехнології.
8. Застосування досягнень біотехнології в медицині (ферменти, гормони, каталізатори).
9. Основні шляхи перетворення енергії в живих системах.
10. Використання біомаси для одержання енергії.
11. Основні напрямки розвитку харчової промисловості з допомогою біотехнології.
12. Особливості виробництва хімічних речовин на основі біокаталізу.
13. Вплив біотехнології на одержання й використання матеріалів.
14. Роль біотехнології в переробці відходів.
15. Внесок біотехнології в розвиток сільського господарства.
16. Історія розвитку біотехнології.

Тема 2 Використання біотехнології в харчовій промисловості

- 1 Роль біотехнології в одержанні харчових продуктів.
- 2 Виробництво молочних продуктів.
- 3 Виробництво хлібопродуктів.
- 4 Бродильні виробництва, одержання білкових продуктів, харчових добавок й інгредієнтів
5. Харчові добавки й інгредієнти

1. Роль біотехнології в одержанні харчових продуктів

Виробництво харчових продуктів і напоїв засновано на переробці сировини, в основному сільським господарством. Всі органічні речовини, застосовувані в харчовій промисловості, можуть використатися мікроорганізмами. Це говорить про ключову роль мікробіології при виробництві продуктів живлення: тут мікроорганізми можуть грати й позитивну, і негативну роль. Остання більше виражена: не випадково запобіжні заходи проти небажаної діяльності мікробів займають таке важливе місце при виробництві їжі і її споживанні. Розмноження мікробів може викликати небажані зміни якості харчових продуктів або їхнього зовнішнього вигляду. При цьому нерідко утворюються речовини, що володіють токсичною дією. Псування їжі та пов'язані із цим економічні збитки досить небажані, однак найнебезпечнішим наслідком розмноження мікробів у харчових продуктах є утворення токсинів. Деякі мікроорганізми при підходящих умовах утворюють токсини, що викликають серйозні захворювання або навіть смерть. Існує два різновиди біотехнології, що розрізняються по цінності одержуваних продуктів і по масштабах їхнього виробництва:

1. Біотехнологія маломасштабного виробництва;
2. Біотехнологія великомасштабного виробництва (табл.1).

При виробництві харчових продуктів потрібний великий вихід продукту й проста технологія. Із цих причин головними в біотехнології харчової промисловості є методи великомасштабного виробництва продуктів. Спектр продуктів харчування, одержуваних за допомогою мікроорганізмів, великий: від вироблюваних із древніх часів за рахунок шумування хліба, сиру, йогурту, вина й пива до новітнього виду харчового продукту - грибного білка мікопротеїна. Мікроорганізми при цьому відіграють важливу роль: використовуються продуковані ними ферменти або інші метаболіти, з їхньою допомогою зброжується харчова сировина, а деякі з них вирощуються для безпосереднього споживання. У харчовій промисловості для здійснення процесів застосовують як чисті культури мікроорганізмів, так і дикі форми, що містяться в значній кількості в сировині та розмножуються при створенні належних умов. Останній спосіб особливо характерний для традиційних бродильних виробництв, що зародилися в часи, коли про мікроби ще нічого не знали. У промисловому

виробництві такі процеси звичайно ведуться під набагато більш строгим контролем. Особливо строгі вимоги це ставляться до вибору штаму й чистоті культур використовуваних мікроорганізмів.

Таблиця 1. Способи біотехнологічного виробництва

| | <i>Маломасштабне виробництво</i> | <i>Крупномасштабне виробництво</i> |
|--|---|--|
| <i>Об'єм установки</i> | <i>100-1000л</i> | <i>10 000л</i> |
| <i>Вартість продукції</i> | <i>Висока</i> | <i>Невисока</i> |
| <i>Тип продукції</i> | <i>Для медицини, фармацевтичної промисловості, високоспеціалізована</i> | <i>Предмети побуту, малоспеціалізована</i> |
| <i>Основні напрямки біотехнологічних досліджень і розробок</i> | <i>Генетичні маніпуляції</i> | <i>Технологія ферментації</i> |
| <i>Вартість наукових досліджень і розвитку</i> | <i>Повишена</i> | <i>Понижена</i> |

Донедавна біотехнологія використовувалася в харчовій промисловості з метою вдосконалення освоєних процесів і більш вмілого використання мікроорганізмів, але майбутнє тут належить генетичним дослідженням зі створенням більш продуктивних штамів для конкретних потреб, впровадженню нових методів у технології шумування. Таким шляхом можна підвищити вихід і якість отримуваної продукції.

2. Виробництво молочних продуктів

У харчовій промисловості ферментацію застосовують головним чином для одержання молочних продуктів. У сквашуванні молока зазвичай беруть участь стрептококи й молочнокислі бактерії; лактоза при цьому перетворюється в молочну кислоту. Шляхом використання інших реакцій, які супроводжують головний процес або йдуть при наступній обробці, одержують й інші продукти переробки молока: сметану, йогурт, сир й ін. Властивості кінцевого продукту залежать при цьому від характеру й інтенсивності реакцій ферментації. У молоці при ферментації можуть протікати шість основних реакцій, і в результаті утворюється молочна, пропіонова або лимонна кислота, спирт, масляна кислота або ж відбувається газоутворення. Головна мета цих реакцій - утворення молочної кислоти. На ній засновані всі способи ферментації молока. Лактоза молока гідролізується при цьому з утворенням галактози й глюкози. Звичайно галактоза перетворюється в глюкозу ще до сквашування. Наявні в молоці бактерії перетворюють глюкозу в молочну кислоту.

Різні процеси ферментації молока проводяться в контрольованих умовах. Протягом багатьох тисячоріч вони здійснювалися за участю бактерій, вже присутніх у молоці. У наш час для цього використовують різноманітні закваски, що дозволяють одержувати молочні продукти потрібної якості й типу. Культури бактерій, що застосовуються при цьому, можуть представляти або один якийсь штам певного виду, або кілька штамів або видів. Комерційні культури-закваски складаються з бактерій, що утворюють молочну кислоту й пахучі речовини (табл. 2).

Один з найдавніших способів, заснованих на ферментації молока – сироваріння. При виробництві сиру зберігається живильна цінність молока. Відомі найрізноманітніші сири – від дуже м'яких до твердих. Різниця між ними визначається тим, що всі натуральні м'які сири містять багато води (50-60%), а тверді – усього лише 13-34%. Хоча властивості сирів різноманітні, у процесі виробництва всіх їх є багато загального. Перший етап – це підготовка культури молочнокислих бактерій і засів нею молока. Потім молоко створюють, для чого звичайно застосовують фермент ренін. Після відділення водянистої рідини (сироватки) отриману сирну масу піддають термообробці й пресують у формах. Далі згусток солять і ставлять на дозрівання.

Древнім продуктом, одержуваним шляхом ферментації є йогурт. Після термообробки молоко заквашують додаванням 2 - 3% закваски йогурту. Головну роль тут грають бактерії *Streptococcus thermophilus* й *Lactobacillus bulgaricus*. Для одержання бажаної консистенції продукту, смаку й запаху ці організми повинні бути в культурі приблизно в рівних кількостях.

Таблиця 2. Функціональна роль деяких бактерій, використовуваних при переробці молока

| Культура | Функція | Використання |
|---|---|---|
| <i>Propionibacterium</i> <i>P. shermanii</i> <i>P. petersonii</i> | Формування смаку | Виготовлення сиру |
| <i>Lactobacillus</i> <i>L. easel</i> <i>L. helveticus</i> <i>L. bulgaricus</i> <i>L. lactis</i> | Утворення молочної кислоти | Дозрівання, закваска, для виготовлення сирів |
| <i>Leuconostoc</i> <i>L. dextranicum</i> <i>L. citrouorum</i> | Утворення смакових речовин з лимонної кислоти (в основному з діацетилю) | Виробництво сметани, вершкового масла, заквасок |
| <i>Streptococcus</i> <i>S. thermophilus</i> <i>S. lactis</i> | Утворення молочної кислоти | Виробництво йогурту і сиру, закваски для сирів |

Кислоту на початку заквашування утворить в основному *Streptococcus thermophilus*. Змішані закваски потрібно часто обновляти, оскільки повторні пересівання несприятливо позначаються на співвідношенні видів і штамів бактерій. З молочних продуктів найпростіше одержувати масло. Залежно від сорту виробленого масла використовують вершки з концентрацією від 30 до 40 %. При їхньому збиванні утворюється масло. При виробництві масла для поліпшення смаку й кращої тривалості зберігання використовують особливі культури бактерій. Поліпшення смаку досягають шляхом створення спеціальних штамів бактерій, відібраних по здатності синтезувати потрібні речовини, що впливають на смак. Першими для цієї мети були використані штами *Streptococcus lactis* і близьких видів, а потім – змішані культури.

3. Виробництво хлібопродуктів

Для виробництва хліба застосовують в основному дріжджі *Saecharomyces cerevisiae*. Звичайно їх ростять у ферментерах періодичної дії. У найпростішому випадку готують тісто, змішуючи при кімнатній температурі борошно, воду, дріжджі й сіль. При замісі шари тіста переміщуються, створюються умови для утворення пухирців газу й підйому тіста. Замішаному тісту дають можливість «підійти», а потім ріжуть на шматки потрібної ваги, формують і витримують у вологій атмосфері. При витримці газові пухирці, що утворилися, заповнюються вуглекислим газом. Він виділяється в ході анаеробного зброджування глюкози й мальтози борошна. Крім вуглекислого газу при анаеробному шумуванні утворюються різноманітні органічні кислоти, спирти й ефіри. Всі вони впливають на формування смаку хліба. Тісто, що «підійшло», випікають. У ході цього термічного процесу крохмаль желатинізується, дріжджі гинуть і тісто частково збезводнюється. При випічці деяких сортів хліба із пшеничного борошна до тіста додають попередньо зброжену суміш житнього борошна й води, заквашену змішаною культурою лактобактерій. Кислота, що є в цій заквасці, надає хлібу особливий смак.

4. Бродильні виробництва, одержання білкових продуктів, харчових добавок й інгредієнтів

Одне з найдавніших бродильних виробництв – одержання напоїв шляхом спиртового шумування. Першими з таких напоїв були вино й пиво. Алкогольні напої одержують шляхом зброджування цукровмісної сировини, у результаті чого утворюється спирт і вуглекислий газ. Зброджування здійснюється дріжджами роду *Saecharomyces*. В одних випадках використовується природний цукор (наприклад той, що міститься у винограді, з якого роблять вино), та інші цукри, що одержують

із крохмалю (наприклад, при переробці зернових культур у пивоварстві). Наявність вільних цукрів обов'язкова для спиртового шумування при участі *Saccharomyces*, тому що ці види дріжджів не можуть гідролізувати полісахариди.

Пиво. Для здійснення спиртового шумування насамперед необхідно, щоб у пивоварній сировині утворився цукор. Традиційним джерелом потрібних для цього полісахаридів завжди був ячмінь, але в якості додаткових використовуються й інші види вуглеводвмісної сировини. Сьогодні ячмінний солод становить основу пива. Ячмінний солод й інші компоненти подрібнюють і змішують із водою при температурі 67 °С. У ході перемішування природні ферменти ячмінного солоду руйнують вуглеводи зерна. Коротка схема процесу пивоварства представлена на малюнку 1

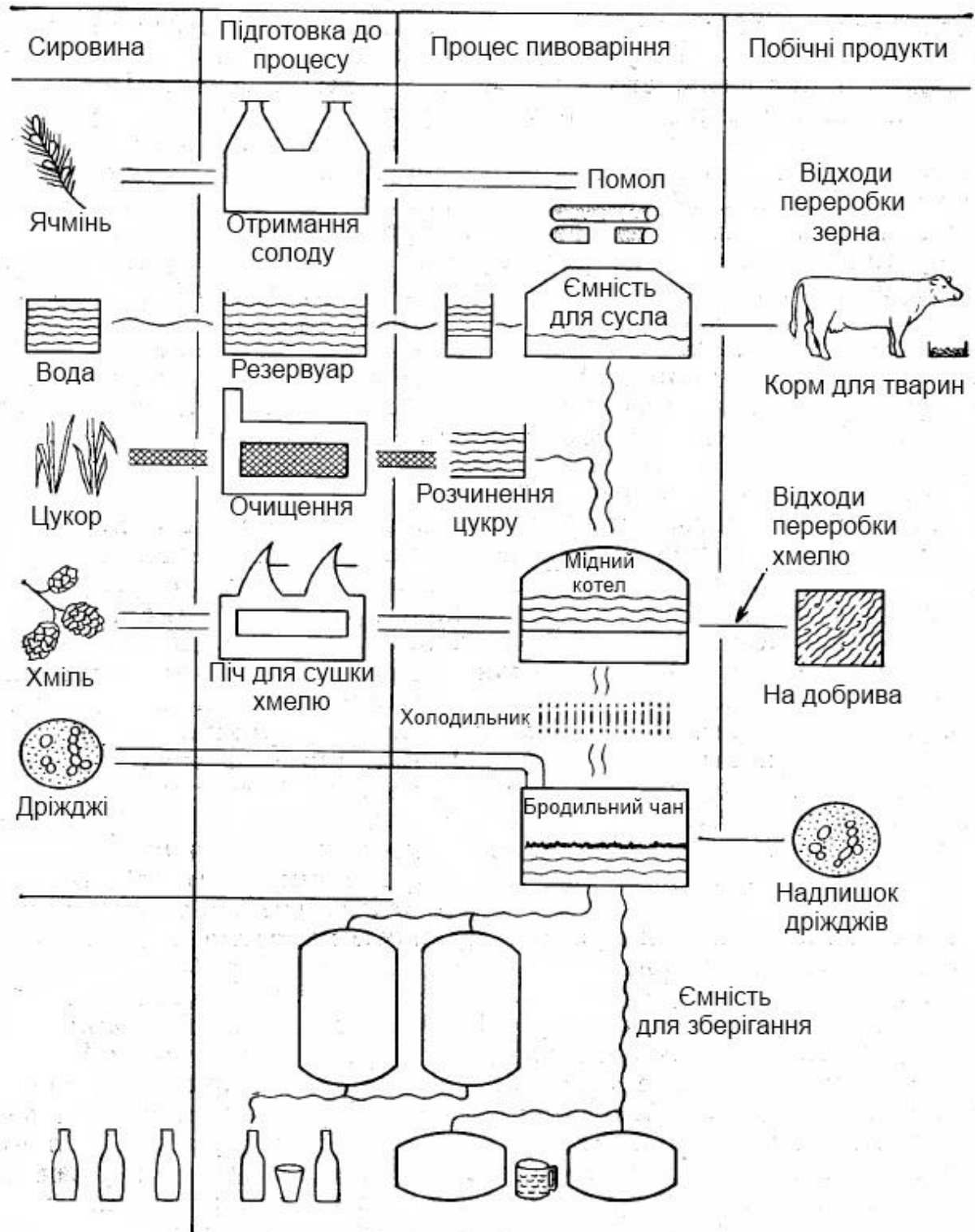


Рис. 1. Операції, що лежать в основі пивоварства

На заключній стадії розчин, що зветь сушлом, відокремлюють від нерозчинних залишків. Додавши хміль, його кип'ятять у мідних казанах. Для виробництва пива з певним змістом алкоголю сушло після кип'ятіння доводять до потрібної щільності. Питома щільність сушла визначається вмістом екстрагованих цукрів, що підлягають зброджуванню. Після закінчення певного часу шумування закінчується, дріжджі відокремлюють

від пива й витримують його якийсь час для дозрівання. Після фільтрації й інших необхідних процедур пиво готове.

Вино У виробництві вина використовується цукор виноградного соку. Майже все вино у світі роблять із винограду одного виду, *Vitis vinifera*.

Сік цього винограду - прекрасна сировина для виробництва вина. Він багатий живильними речовинами, служить джерелом утворення приємних запахів та смаку, містить багато цукру; його природна кислотність придушує ріст небажаних мікроорганізмів. Виноробство на відміну від пивоварства до самого останнього часу було засновано на використанні диких місцевих дріжджів. Єдина обробка, який піддавали виноград до віджиму - окурювання його сірчистим газом, щоб сік не темнів. Крім того, сірчистий газ придушує діяльність не винних дріжджів, це дозволяє винним дріжджам здійснювати шумування без перешкод. При виготовленні червоного вина кісточка й шкірочка до кінця шумування перебувають у виноградному суслі, а біле вино роблять із чистого соку. Різні смакові відтінки з'являються при витримці вина; добре відомо, що свій внесок вносить взаємодія з деревиною й повітрям при зберіганні в дерев'яних бочках.

Після завершення спиртового шумування молоде вино зберігають в особливих умовах, щоб воно не зіпсувалося. Якщо вино не передбачається піддавати додатковому яблучно-молочнокислому добриджуванню, його обробляють сірчистим газом, що придушує окисні процеси, які викликають його потемніння. До цього з вина видаляють дріжджі, щоб припинити шумування. Першосортні вина піддають витримці різного роду залежно від типу вина, а більш дешеві розливають, як правило, у той же рік, коли його отримали. Труднощі при виробництві дешевих вин зазвичай пов'язані з їхньою схильністю до вторинного, яблучно - молочнокислого шумування, що розвивається після розливу. Якщо вино схильне до такого шумування, його(бродіння) штучно викликають до розливу, а якщо ні, то придушують. При виробництві першосортних червоних вин таке шумування навіть бажане. Воно становить природну частину процесу й відбувається при зберіганні. Цей тип шумування здійснюється молочнокислими бактеріями. Деякі особливі сорти вин одержують при участі гриба *Botrytis cinerea*. Його розвиток на ягодах приводить до їхнього зневоднювання й підвищення змісту цукру, що визначає солодкий смак вина. При цьому зараження повинне відбуватися тільки перед збором винограду.

Мікроорганізми почали використовувати у **виробництві білкових продуктів** задовго до виникнення мікробіології. Це всілякі різновиди сиру, а також продукти, одержувані шляхом ферментації соєвих бобів. І в першому, і в другому випадку живильною основою є білок. При виробництві даних продуктів за допомогою мікробів відбувається глибока зміна властивостей білковмісної сировини. У результаті одержують

харчові продукти, які можна довше зберігати (сир). Мікроби відіграють роль й у виробництві деяких м'ясних продуктів, призначених для зберігання. Наприклад, при виготовленні деяких сортів ковбаси (salami) використовується кислотне шумування, при участі молочнокислих бактерій. Кислота, що утворилася, сприяє збереженню продукту й вносить вклад у формування його особливого смаку. Кислотоутворюючі бактерії використовуються й при засоленні м'яса. Ряд блюд східної кухні одержують шляхом ферментації риби. Для цього застосовують цвілеві гриби й дріжджі. У цілому використання мікроорганізмів у переробці білків обмежене. Виключенням є сироваріння й вирощування мікробної маси, що переробляє в харчові продукти.

По багатьом важливим показникам біомаса мікроорганізмів може мати досить високу живильну цінність. У чималому ступені ця цінність визначається білками: у більшості видів він становить значну частку сухої маси клітин.

Для мікробного білка придумана спеціальна назва - білок одноклітинних організмів (БОО). Виробництво його пов'язане з великомасштабним вирощуванням певних мікроорганізмів, які збирають і переробляють у харчові продукти. В основі лежить технологія ферментації - галузь бродильної промисловості й виробництва антибіотиків. Щоб здійснити більше повне перетворення субстрату в біомасу мікробів, потрібен багатобічний підхід. Вирощування мікробів у харчових цілях становить інтерес по двох причинах:

1. Вони ростуть набагато швидше, ніж рослини або тварини: час подвоєння їхньої чисельності вимірюється годинами. Це скорочує строки, потрібні для виробництва певної кількості їжі.

2. Залежно від вирощуваних мікроорганізмів як субстрати можуть використовуватися різноманітні види сировини. Що стосується субстратів, то тут можна йти по двох головних напрямках: переробляти низькоякісні непридатні продукти або орієнтуватися на легкодоступні вуглеводи й одержувати за їхній рахунок мікробну біомасу, що містить високоякісний білок. І в тому, і в іншому випадку технологія ферментації відіграє ключову роль. Особливість БОО полягає в тому, що цей продукт, по перше, практично цілком складається з мікробної біомаси, і, по друге, у його виробництві нерідко беруть участь мікроби, досвід використання яких малий й які раніше в їжі були відсутні.

Державні установи, що контролюють якість харчових продуктів, вимагають, щоб виходу на ринок БОО передували випробування на безпеку нового продукту. Такі випробування завжди дорого вартісні, і це стримує розвиток виробництва, зокрема виробництва продуктів на основі БОО, особливо призначених у їжу. Із цієї причини ухил у розвитку виробництва БОО був зроблений у бік виробітку кормів для тварин, а не білків, що безпосередньо йдуть у їжу.

Єдиний офіційно дозволений вид білкової їжі мікробного походження - це мікопротеїн(мукопротеїн). Мікопротеїн - це харчовий продукт, що складається в основному з міцелія гриба. При його виробництві використовується штам *Fusarium graminearum*, виділений із ґрунту (мал.2).

5. Харчові добавки й інгредієнти

Підкислювачі застосовуються в основному як смакові добавки для додання продуктам «гострого» смаку. У практику вони ввійшли швидше за все в результаті широкого використання органічних кислот для збереження їжі. Самим популярним підкислювачем у харчовій промисловості є лимонна кислота. Спочатку цей продукт одержували віджимаючи сік з лимонів, сьогодні лимонну кислоту одержують сброджуючи утримуючі глюкозу гідролізати.

Амінокислоти. У світі виробляється приблизно 200 тис. тонн амінокислот у рік; їх використовують головним чином як добавки до кормів і харчових продуктів. Головними продуктами, одержуваними за технологією ферментації є глютамінова кислота й лізин.

Вітаміни й пігменти. Основні потреби промисловості в цих сполуках задовольняються за рахунок природних джерел і хімічного синтезу, але два з них - каротин і рибофлавін, одержують методами біотехнології.

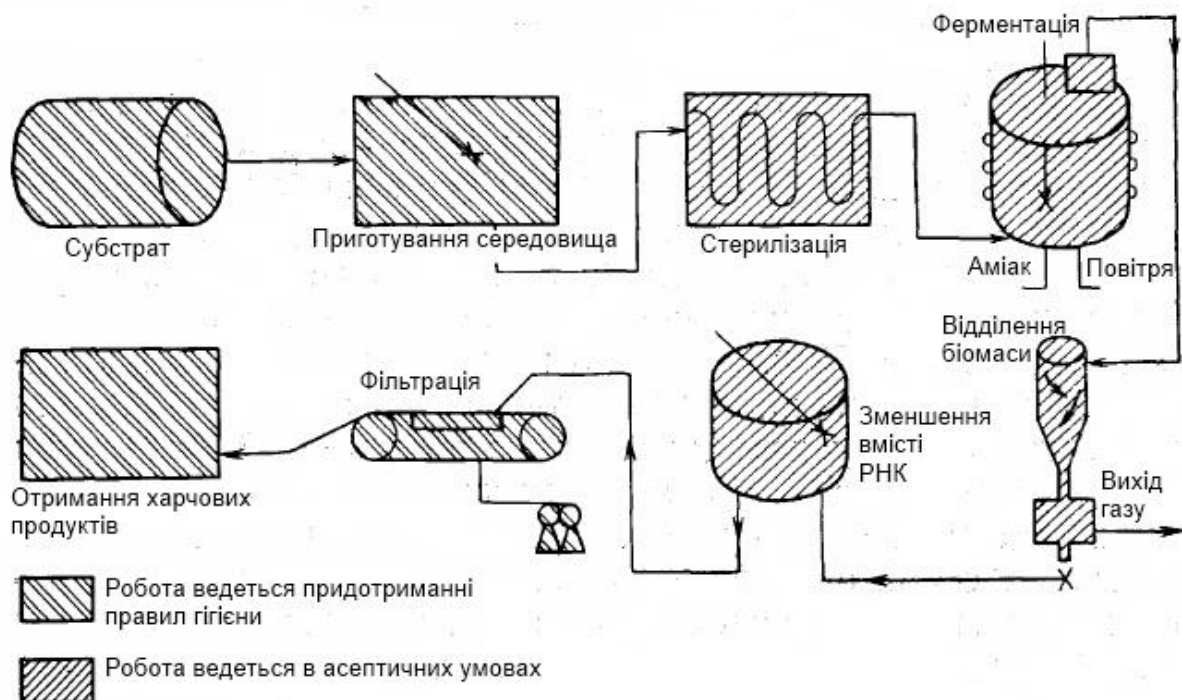


Рис. 2. Схематичне зображення виробництва мікопротеїну

Підсилювачі смаку. Головним підсилювачем смаку вважається натрієва сіль глютамінової кислоти: її можна одержати за допомогою *Micrococcus glutamicus*. Піонером використання підсилювачів смаку є

Японія, але сам принцип застосовувався при створенні рецептів багатьох блюд в всьому світі.

Питання для самоконтролю:

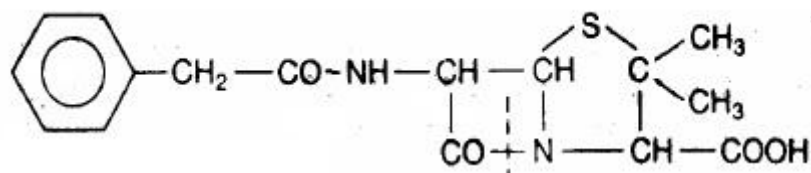
1. Роль мікроорганізмів в одержанні продуктів живлення.
2. Виробництво сиру.
3. Виробництво йогурту.
4. Виробництво масла.
5. Виробництво хлібопродуктів.
6. Виробництво пива.
7. Виготовлення вина.
8. Одержання білкових продуктів.
9. Одержання харчових добавок й інгредієнтів (підкислювачі, амінокислоти, вітаміни, пігменти, підсилювачі смаку).

Тема 3 Медицина й біотехнологія

- 1 Виробництво й застосування антибіотиків.
- 2 Імунологічний аналіз.
- 3 Виробництво й застосування гормонів.
- 4 Ферменти.

1. Виробництво й застосування антибіотиків

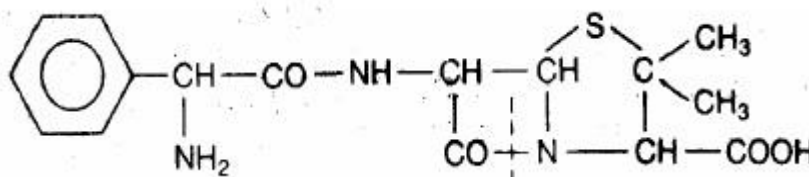
Можна вважати, що клінічна біотехнологія зародилася з початку промислового виробництва пеніциліну в 40-х роках ХХ століття і його використання в терапії. Застосування цього першого природного пеніциліну вплинуло на зниження захворюваності й смертності більше, ніж якого-небудь іншого препарату, але, з іншого боку, поставило ряд нових проблем, які вдалося вирішити знову таки за допомогою біотехнології. По-перше, успішне застосування пеніциліну викликало більшу потребу в цьому лікарському препараті, і для її задоволення потрібно було різко підвищити вихід пеніциліну при його виробництві. По-друге, перший пеніцилін діяв головним чином на лише деякі бактерії, а потрібно було одержати антибіотики з більш широким спектром дії, що вражають і всі бактерії. По-третє, оскільки антибіотики викликають алергійні реакції, необхідно було мати цілий набір антибактеріальних засобів, для того щоб можна було вибрати з рівно ефективних препаратів такий, котрий не викликав би у хворих алергію. По-четверте, пеніцилін нестабільний у кислому середовищі шлунка і його не можна призначати для прийому усередину. Нарешті, багато бактерій з часом отримують стійкість до антибіотиків. Класичний приклад тому – утворення стафілококами ферменту пеніцилінази, що робить фармакологічно неактивну пеніцилінову кислоту. Збільшити вихід пеніциліну при його виробництві вдалося в основному завдяки послідовному використанню серії мутантів вихідного штаму *Penicillium chrysogenum* а також шляхом зміни умов вирощування. Були виділені нові антибіотики, ефективні для бактерій: стрептоміцин, цефалоспорін-стрептоміцин (суміш), цефалоспорін. Отримано також безліч напівсинтетичних антибіотиків з новими властивостями: з іншим спектром дії, чутливістю до пеніцилази й умісту шлунково-кишкового тракту. Так, ампіцилін є напівсинтетичним похідним бензилпеніциліна, що відрізняються від нього всього лише наявністю додаткової аміногрупи в бічному ланцюзі (мал. 3). Проте, він активний при пероральному введенні й діє на широке коло бактерій, у тому числі на ті, що викликають захворювання органів дихання, травлення і виділення.



Бензилпеніцилін, ампіцилін

Рис. 3. Структурні формули антибіотиків.

Стійкий до кислоти і клоксосилін, і до того ж він не руйнується - лактамазами.



Його часто призначають разом з ампіциліном тим хворим, у яких виявлені стафілококи, що синтезують пеніциліназу.

2. Імунологічний аналіз

Розробка методу радіо імунологічного аналізу (RIA) вплинуло на багато областей клінічної медицини і науку взагалі. Він дозволяє визначити дуже невеликі кількості речовини шляхом визначення міченого радіоактивним ізотопом антигену при додаванні все зростаючої кількості неміченого випробуваного або стандартного антигену. Особливо яскраво переваги методу виявилися в ендокринології, тому що концентрація гормонів звичайно невелика, а визначення їх за допомогою біологічних методів аналізу – довга, а іноді й нездійсненна процедура. Аналізовані речовини бувають нестабільні навіть поза умовами аналізу, а при аналізі їх нерідко доводиться концентрувати, крім того, вони містять домішки, які можуть мати біологічну активність, подібну досліджуваному гормону.

Діагностика злоякісних утворень. Відомі кілька специфічних пухлинних маркерів, які з успіхом використовуються в діагностиці, прогнозуванні і виявленні поширення пухлин. Деякі з них виявляються в крові, а інші знаходять у препаратах пухлин. Так, фетопротейн є головним білком сироватки плода, його вміст зменшується протягом першого року життя. Визначаючи вміст фетопротейна в плазмі за допомогою методу RIA, вдалося встановити, що він підвищується в багатьох хворих з гепатомою (рак печінки) і при раку насінників (тератомі). Були виділені гомогенні антитіла до клітин злоякісної меланоми людини (рак шкіри), які не давали перехресної реакції з нормальними клітками шкіри.

3. Виробництво й застосування гормонів

Прикладом використання клітин зі зміненим геномом для виробництва лікарських препаратів може бути синтез інтерферону культивованими клітинами лімфобластоми й вірусних антигенів для виробітку вакцин при вирощуванні клітинних культур на інертних мікроносіях. Мікроорганізми використовуються й на окремих стадіях синтезу лікарських речовин, що раніше здійснювався шляхом багатоступінчастих і дорогих хімічних реакцій. Так, один із штамів хлібної

цвілі, *Rhizopus arrhizus*, на початковому етапі синтезу похідного стероїду, кортизону, може гідроксилувати прогестерон.

Застосовувані методи біоконверсії поряд із традиційними хімічними перетвореннями дозволили одержати багато стероїдів більш простими й дешевими способами. Саме завдяки цьому такі стероїди, як дексаметазон, тестостерон, естрадіол можуть сьогодні широко застосовуватися в клініці.

Інсулін

1-2% населення Європи страждає діабетом, і близько 20% цих хворих не можуть існувати без ін'єкцій інсуліну. Із часу проведення перших досвідів по використанню інсуліну для лікування діабету в 1922 р. цей гормон виділяли з підшлункової залози тварин (корів і свиней). Інсулін тварин небагато відрізняється по амінокислотній послідовності від інсуліну людини. Особливо близькі інсуліни людини й свині: в інсуліну свині треонін у білковому ланцюгу замінений на аланін. Інсуліни корови й людини відрізняються по трьох амінокислотним залишкам. Саме цими розходженнями визначалася підвищена імуногенна активність інсуліну корови в порівнянні з інсуліном свині. Майже у всіх хворих, яких лікували введенням інсуліну корови, у крові з'являлися антитіла до інсуліну. Антигенні властивості інсуліну частково визначалися й домішками в його препаратах. Швидше за все, саме утворенням антитіл до інсуліну давали деякі незначні побічні ефекти при ін'єкціях інсуліну корови, наприклад атрофія підшкірного жирового прошарку в місці повторного введення. У випадку високоочищеного інсуліну ці ефекти були відсутні. Згодом завдяки генній інженерії та за допомогою *E. Coli* (кишкова паличка) був отриманий людський інсулін. Інсулін людини, отриманий за допомогою *E. Coli*, виявився першим "генно-інженерним" білком, випробуваним на людях. У досвідах зі здоровими добровольцями було встановлено, що він безпечний (не викликає алергійних й інших небажаних реакцій) і має здатність знижувати рівень глюкози в крові при введенні під шкіру або внутривенно. Зараз такий інсулін людини одержують безліч діабетиків у всьому світі. Цьому передували клінічні випробування, у ході яких вивчалися зміни метаболізму й імунологічні ефекти.

Інтерферон

Інтерферони - це група білків, відкритих у ході вивчення речовин, вироблених клітинами, зараженими вірусами. Вони індукують як локальні, так і системні противірусні реакції в інших клітинах. Крім того, інтерферони володіють двома важливими властивостями: придушують проліферацію клітин (є протипухлинним засобом) і модулюють імунну систему. Інтерферони ділять на кілька груп:

- лейкоцитарні інтерферони,
- інтерферони фібробластів,
- імунні інтерферони

Донедавна інтерферони були доступні лише в невеликій кількості. Частково очищені препарати одержували головним чином з лейкоцитів людини. У цей час синтезований ген лейкоцитарного інтерферону людини довжиною 514 пар нуклеотидів; його включали в плазмиду й клонували потім в *E. Coli*, таким же способом був отриманий ген фібробластного інтерферону. Вдалося досягти експресії гена інтерферону людини в клітках дріжджів. Інтерфероном можна лікувати гепатит В, деякі форми герпесу. Серед онкологічних хворих були проведені випробування на пацієнтах з метастазуючим раком молочної залози, і в 12 з 43 діаметр пухлини зменшився на 50%. Однак дія інтерферону на онкологічні пухлини до кінця не вивчена. Неодноразово повідомлялося про побічні ефекти при застосуванні інтерферону (лихоманка, загальне нездужання, втрата ваги).

Гормон росту

Гормон росту людини (соматотропін) - це білок, що складається з 191 амінокислотного залишку, і має молекулярну масу 22000. Він утворюється й секретується передньою частиною гіпофізу й необхідний для росту кісток. З'ясовано, що в 7-10 людей на 1 млн. цей гормон утворюється в недостатній кількості, що приводить до затримки росту (карликовості). Хоча це захворювання зазвичай вроджене, затримка росту стає помітною лише в більш пізньому, дитячому віці, тому що гормон не потрібний для внутрішньоутробного розвитку.

Будова гормону росту видоспецифічна, і в клініці можна застосовувати лише гормон росту людини. Донедавна його одержували з гіпофізу людей, але цей спосіб має свої обмеження. У цей час виробництво гормону росту налагоджено на основі технології рекомбінантних ДНК із використанням *E. Coli*. Очищений препарат гормону з бактерій по біологічній активності подібний до гормону з гіпофіза.

4. Ферменти

Ферменти становлять основу багатьох тестів, використовуваних у клінічній медицині. Вони застосовуються при автоматизованому аналізі й біохімічному дослідженні рідин організму, які ведуться в біохімічних лабораторіях сучасних клінік. Прикладом таких ферментів можуть бути глюкозооксидаза, гексокіназа, естераза, алкогольдегідрогеназа. Іноді ферменти застосовують у терапії (наприклад, струптокіназу або урокіназу, які мають потужну фібринолітичну дію при важкому тромбозі судин). Очевидно, основні зусилля в найближчі кілька років будуть спрямовані на розвиток технології біосенсорів. Ферменти можуть виявитися досить корисними для контролю за концентрацією різноманітних речовин, що цікавлять лікарів: проміжних метаболітів, лікарських препаратів і гормонів. Свою роль зіграє тут біотехнологія: вона надасть і звичайні й

рідкі ферменти мікробів, отримані як шляхом великомасштабного їхнього вирощування, так і за допомогою технології рекомбінантних ДНК.

На закінчення необхідно відзначити, що останні досягнення біотехнології роблять і будуть впливати на діагностику, лікування й розуміння основ патології багатьох важких захворювань.

Питання для самоконтролю:

1. Виробництво й застосування антибіотиків.
2. Імунологічний аналіз.
3. Виробництво й застосування інсуліну.
4. Виробництво й застосування інтерферону.
5. Виробництво й застосування гормону росту.
6. Застосування ферментів.

Тема 4 Використання біотехнологічних процесів у виробництві енергії

1. Екологічна біотехнологія – основа енергетики майбутнього
- 2 Роль біотехнології у виробництві енергії.
- 3 Виробництво спирту.
- 4 Одержання метану.

1. Екологічна біотехнологія – основа енергетики майбутнього ***Виробництво етилового спирту з нетрадиційної сировини***

Нині більше половини світового виробництва етанолу використовується як добавку до палива для двигунів внутрішнього згоряння і лише 15 % – для виробництва спиртних напоїв. Так, у 1998 р. світове виробництво етанолу становило 31 млрд л, з них харчового – близько 4 млрд л, для хімічної промисловості – близько 8 млрд л, паливного – близько 20 млрд літрів.

Як паливо етанол можна використовувати у безводному вигляді (99,8 %), у суміші з бензином (його частка досягає близько 20 %) , у формі гідратованого етанолу (94 %), не змішаного з бензином.

Використання такого палива дає змогу суттєво зменшити вміст шкідливих компонентів у вихлопних газах (СО, оксидів азоту, інших токсичних викидів).

Вважають, що паливний етанол має найбільший потенціал серед інших видів палива з біомаси, враховуючи невичерпні джерела його отримання. Основним способом здешевлення цього продукту може бути заміна традиційної сировини для отримання спирту на сорго, топінамбур (земляну грушу), цукрову тростину, цукровий буряк та дерев'яністі рослини (вільха, осика), відходи сільського господарств та деревообробної промисловості, побутове сміття.

У виробництві етанолу на такій сировині спершу відбувається гідроліз целюлози та геміцелюлози, а потім їх зброджування дріжджами до етанолу. Нині розробляють технології об'єднаного ферментативного гідролізу целюлози та геміцелюлози і ферментації отриманих вільних цукрів до етанолу.

Виробництво біогазу

Одним із можливих способів одержання енергії з біомаси тваринного та рослинного походження є її анаеробне зброджування. Як сировину для одержання біогазу можна використовувати органічні відходи сільського господарства (солома, бадилля, трава тощо), відходи харчових та переробних підприємств, осади стічних вод, гній з тваринницьких ферм.

У процесі зброджування таких відходів можна отримати значний вихід біогазу з високим вмістом метану. Так, при метановому обробленні картопляних відходів утворюється 0,455 м³ біогазу на 1 кг сухої органічної речовини, бадилля цукрового буряку – 0,452, відходів томатів – 0,750.

Вихід біогазу при збродженні стоків свинокомплексів сягає 20 – 25 мз з 1 мз гною.

Біогаз можна використовувати для виробництва електроенергії, спалювання для отримання тепла, накачування в балони для використання на транспорті.

Виробництво біогазу з біомаси має такі *переваги*:

- біомаса постійно відновлюється;
- біомаса є джерелом екологічно чистої енергії;
- активний мул, що накопичується в процесі бродіння. є високоякісним добривом;
- процес сприяє підтриманню чистоти довкілля за рахунок утилізації відходів.

У світі вже існує близько 1000 високоефективних біогазових установок (як промислових, так і централізованих сільськогосподарських), спроектованих на високому інженерному рівні. 44 % з них – у Європі, 14 %

– у Північній Америці.

Виробництво вуглеводнів за допомогою *Botryococcus braunii* В одноклітинній водорості *Botryococcus braunii* 15 – 75 % від маси сухої речовини становлять вуглеводні (у деяких вищих рослин це співвідношення дорівнює приблизно 1 %).

Вуглеводні накопичуються у клітинній стінці, що дає можливість виділяти вуглеводні простим центрифугуванням, не руйнуючи клітини, які після видалення вуглеводнів можна повернути у культуральне середовище.

У штучних умовах можливий вихід вуглеводнів до 60 т/га/на рік, які можливо використовувати як джерела енергії або як сировину для нафтохімічної промисловості.

Фотовиробництво водню та перетворення енергії сонячного світла

Водень називають паливом майбутнього. Цей газ можна використовувати у побуті замість природного і як автомобільне паливо.

Недоліком є те, що водень практично не зустрічається на Землі у вільному вигляді; він весь окиснився до води.

Встановлено, що хлоропласти рослин та бактеріальні екстракти, що містять гідрогеназу, після опромінення видимим світлом можуть здійснювати фотоліз води, тобто її розщеплення з виділенням водню.

Важливість такої форми отримання енергії зумовлена:

- наявністю надлишку субстрату для фотолізу (води);
- нелімітованим джерелом енергії (сонячне світло);
- можливістю зберігання водню;
- незабрудненням атмосфери при використанні водню як палива;

- високою теплотворною здатністю водню (29 ккал/г порівняно з 3,5 ккал/г для вуглеводнів);
- можливістю відновлення процесу, оскільки після видалення водню субстрат (вода) регенерує;
- перебігом процесу при нормальній температурі без утворення токсичних проміжних сполук.

2. Роль біотехнології у виробництві енергії

Невичерпним джерелом енергії є сонце. Щороку на поверхню Землі надходить $3 \cdot 10^{24}$ Дж енергії, у той час як запаси нафти, природного газу, вугілля, урану по оцінках еквівалентні $2,5 \cdot 10^{22}$ Дж. Тобто. менше ніж за тиждень Земля одержує від Сонця таку ж кількість енергії, яке є у всіх непоновлюваних її запасах. Якби тільки 0,1% поверхні Землі займали колектори, що використовують сонячну енергію з коефіцієнтом корисної дії близько 10%, то були б задоволені всі поточні потреби в енергії у світі за рік ($3 \cdot 10^{20}$ Дж). Однак у сонячній енергії є два недоліки: вона надходить нерівномірно й дифузно. Тому необхідно, по-перше, розробити якісь системи нагромадження, так щоб енергія була доступна по потребі, а по-друге, створити колектори великої площі. Обидва цих фактори накладають певні обмеження на використання систем на основі сонячної енергії. Обидві ці проблеми вирішує виробництво біомаси шляхом фотосинтезу: По-перше, колектори можуть бути вирощені з насіння, по-друге, одержуваний продукт стабільний і може зберігатися. Втім, при одержанні й використанні біомаси для виробництва енергії виникають свої проблеми, які, однак, урівноважуються перевагами: її можна одержувати у всьому світі, вона відновлюється й виробляється згідно з навколишнім середовищем.

Перевага використання сонячної енергії, що міститься в біомасі, у тому, що вона запасується у формі органічних речовин і тому її можна зберігати й переміщати в часі й просторі.

До недоліків ставиться мала ефективність (звичайно менш 1% і рідко більше 2%) використання сонячної енергії при фотосинтезі; при утворенні продукції рослинництва дифузійне, а часто й сезонний характер продукції і високий ваговий зміст води. Із цих причин для одержання високоякісного, багатого енергією сировини необхідно здійснити його збір, перевезення, видалення води, концентрування або ж хімічну або біологічну переробку й упакування. Якщо ж завданням є перетворення біомаси в цінні види палива, то думати доводиться не тільки про видалення води й збільшенні питомого змісту енергії, але й про те, як одержати продукт, сумісний з технологією, для якої він призначений. Раніше основним шляхом використання рослинної сировини як палива у всьому світі було пряме спалювання головним чином деревини й у менших масштабах – залишків урожаю й гною. У цей час на різних стадіях

розробки перебуває ряд систем термічної модифікації такої сировини. Серед них – установки на основі піролізу, газифікації й гідрогенізації. Для цієї мети застосовують головним чином цукрову тростину (очерет), кукурудзу, деревину, гній, побутове сміття, а також відходи сільського господарства й промисловості. Основним постачальником біомаси, що йде на паливо, служить сільське й лісове господарство. Оцінюючи нинішні можливості, варто виходити з наявних земельних площ, урожайності сучасних культур, продукуючих цукор і крохмаль, і числа працівників, зайнятих у сільському господарстві. Щорічний приріст біомаси у всьому світі становить близько $2 \cdot 10^{11}$ т. З них приблизно $1,2 \cdot 10^{11}$ т становить деревина (у перерахуванні на суху речовину).

Як сировина для виробництва біопалива, деревина володіє рядом переваг: вихід продукції в перерахуванні на гектар дуже високий; з деревини одержують значно більше біомаси, ніж з будь-якого іншого джерела; розведення лісів вимагає набагато менших вкладень, чим вирощування інших культур. До числа недоліків потрібно віднести тривалість росту до зрілості, а також той факт, що головний компонент деревини, лігноцелюлоза, дуже складна для переробки. У найближчому майбутньому найбільш зручним і доступним джерелом сировини будуть відходи деревообробної промисловості, але згодом все зростаюче значення буде мати «вирощування» палива. Оскільки основні витрати пов'язані з очищенням землі й посадкою, основна увага приділяється сьогодні вирощуванню твердодеревного бистроростучого поросльового лісу.

Більшим потенціалом біомаси відрізняються прісноводні й морські рослини, але надзвичайно великий вміст води в багатьох цих рослинах при збиранні й складність сушіння на сонці перешкоджають використанню їх як палива шляхом прямого спалювання. Найбільш підходящою технологією переробки водяних рослин і сирих відходів землеробства в паливо, корми й добрива є анаеробна ферментація. Ці рослини просто процвітають у стічних водах. Вони успішно очищають воду й добре при цьому ростуть. Таким чином, вони можуть відігравати подвійну роль: поліпшувати стан навколишнього середовища й служити важливим джерелом енергії. У ряді країн з водяних рослин одержують біогаз. Їх стали використовувати для цієї мети, оскільки рослини винятково швидко ростуть, причому на поверхні води, і їх легко збирати. Можна використовувати й водорості, що ростуть у ставках, у яких переробляються стічні води, що містять органічні речовини. Така технологія особливо ефективна для країн, де багато сонця, і до того ж нерідко виникають проблеми переробки рідких відходів. Багато рідких і напівтвердих відходів - ідеальне середовище для росту фотосинтезуючих водоростей і бактерій. При гарних умовах вони швидко нарощують біомасу й здійснюють ефективне перетворення сонячної енергії (3,5%); вихід продукції становить 50-80 т з гектара в рік.

Зібрані водорості можна прямо зкормлювати тваринам, одержувати з них метан або спалювати для одержання електроенергії. При цьому одночасно відбувається переробка відходів й очищення води. За існуючими оцінками витрати на такі системи в умовах Каліфорнії становлять близько 50% від витрат на звичайні системи переробки стічних вод. Головна господарська проблема тут - витрати на збір продукції. Її можна вирішити, використовуючи інші види водоростей, які легше збирати, і нові технічні прийоми збору.

3. Виробництво спирту

Що стосується етилового спирту як палива, то майже всі існуючі способи його виробництва засновані на переробці соку цукрової тростини, цукрового буряка, кукурудзяного крохмалю. Процес складається з **безлічі** стадій: вирощування рослин, їхнє збирання, перевезення на заводи, готування сула, сбродження, перегонка, зневоднювання, денатурація, готування сумішей і реалізація продукції. Крім того, доводиться вирішувати питання про видалення й переробку відходів. Прості цукри із цукрової тростини можна одержати механічним віджимом соку, а у випадку цукрового буряка - дифузійним методом. Крохмальну сировину потрібна механічно подрібнити до консистенції рідкого тіста, а потім нагрівати до руйнування крохмальних зерен. Далі можна застосувати різні варіанти гідролізу, заснованого на використанні різних сполучень кислот або застосуванні ферментів. Ваговий вихід продукту залежить від природи використовуваної сировини: з 1 кг сахарози можна одержати до 0,65 л спирту, а з 1 кг крохмалю - 0,68 л спирту. У цей час головні складності, пов'язані з виробництвом спирту як пального, пов'язані з тим, що сировина для цього процесу є одночасно й сировиною для виробництва харчових продуктів і кормів. Через цю конкуренцію вартість сировини досить висока. Залежно від типу сировини 60-85% кінцевої продажної ціни одержуваного сьогодні спирту становить вартість сировини.

Виробництво етилового спирту за допомогою дріжджів засноване на давно відомій технології. Для одержання паливного спирту необхідно здійснити ряд процесів: підготувати сировину, провести шумування, відгін й очищення, зневоднювання, денатурацію й організувати зберігання. Обсяг виробництва великих спиртових заводів може бути дуже **великим**: вони щорічно споживають тисячі тонн сировини й випускають мільйони літрів продукції. Найбільший внесок в енергобаланс країни виробництво етилового спирту дає в Бразилії. В 1982 р. там було отримано $5 \cdot 10^9$ літрів спирту. Схема процесу виробництва етанолу представлена на малюнку 4. Технічний спирт застосовують головним чином як пальне для двигунів внутрішнього згорання. Найчастіше його використовують у сумішах, але при наявності підходящих машин й у чистому виді. Хоча етиловий спирт можна використати для готування їжі, обігріву, висвітлення або

виробництва пари та електрики, особливої вигоди одержати тут не вдається. Справа в тому, що в процесі перетворення біомаси в етанол відбувається значна втрата енергії. Енергія споживається на всіх стадіях переробки спирту. Найбільше витрачається її на концентрування й зневоднювання при перегонці. Цю енергію можна одержати з відходів сировини (соломи й т.д.), спалюючи деревину або викопне паливо: газ, нафта або вугілля. У цілому енерговитрати на переробку спирту близькі до кількості енергії, одержуваної у формі спирту. Із цієї причини енергозабезпечення всього процесу повинне йти або за рахунок переробки відходів, або за рахунок використання найдешевшого палива.

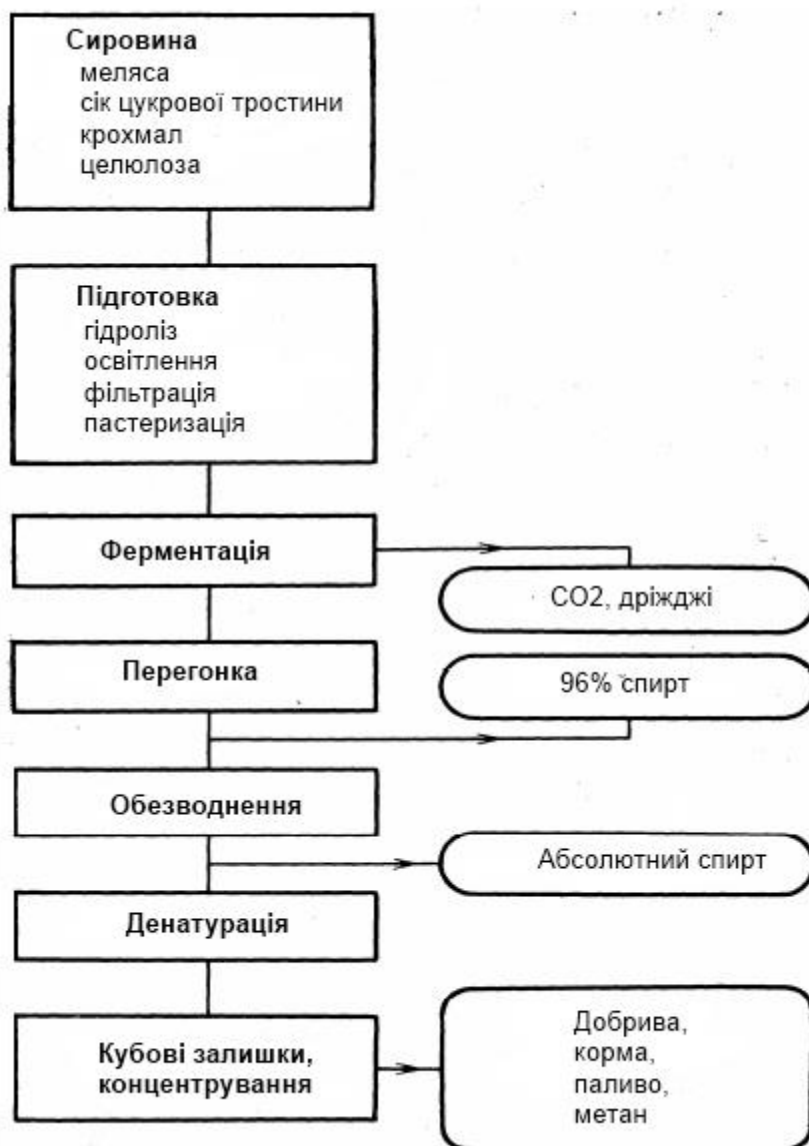


Рис. 4. Схема виробництва етанолу

Основну масу вироблюваного на великих підприємствах спирту одержують сьогодні за допомогою дріжджів. Існує три основних способи збродження цукорвмісної сировини: періодичний, періодичний з повторним використанням клітин і безперервний. По завершенні збродження концентрація спирту становить 6- 12%. Вона залежить від

штаму дріжджів і початкової концентрації цукру. Важливо досягти найвищої концентрації спирту, тому що від цього залежить витрата пари на перегонку. Додаткова пара потрібна для одержання безводного спирту із суміші вода – етиловий спирт, що кипить при постійній температурі. Спочатку при 64-84 °C відганяється суміш бензолу, води, спирту, а після видалення всієї води, при 68,25 °C – інша суміш бензолу й спирту. Після відгону всього бензолу залишається лише абсолютний спирт, що збирають, а бензол використовують повторно. Головним побічним продуктом виробництва є: CO₂, дріжджі, сивушні масла й залишки сировини. Кожний з них має певну цінність, але переробка рідких залишків може бути утруднена. У більшості випадків, тому що за харчовий спирт потрібно платити великий податок, його денатурують. Для цього додають речовини, що надають йому гіркий смак, або змішують його з бензином.

4. Одержання метану

При переробці сировини в анаеробних умовах виходить суміш газів - метану й вуглекислоти, які утворюються в результаті розкладання складних субстратів при участі змішаної популяції мікроорганізмів різних видів. Оскільки шуканий продукт - це газ, збір його не становить труднощів: він просто виділяється. Іноді при більш складних способах його використання або розподілу по трубах виникає необхідність у його очищенні від домішок або компресії. В анаеробному реакторі можна переробляти найрізноманітнішу сировину: відходи сільського господарства, стоки переробних підприємств, що містять цукор; рідкі відходи, що утворюються на цукрових заводах; побутові відходи; стічні води міст і спиртзаводів. Досить важливо те, що сировину з високим змістом целюлози майже неможна використати для інших цілей: вона дешева або взагалі не має комерційної цінності. Звичайно масштаби переробки невеликі (у межах однієї ферми або села), хоча були розроблені й проекти більших установок для переробки стоків або ж промислових відходів. Неочищений біогаз зазвичай використають для готування їжі й освітлення. Його можна застосовувати як паливо в стаціонарних установках, що виробляють електроенергію. Стиснений газ у балонах придатний у якості пального для машин і тракторів. Очищений біогаз нічим не відрізняється від метану з інших джерел, тобто природного газу. Нерідко, особливо в розвинених країнах, біореактори використовують головним чином для переробки відходів. Установки для виробництва біогазу за принципом зростання обсягу можна згрупувати в такий спосіб:

1. Реактори в сільській місцевості в країнах, що розвиваються (звичайно мають обсяг 1-20 м³);
2. Реактори на фермах розвинених країн (50-500 м³);

3. Реактори, що переробляють відходи промисловості (наприклад, цукрових, спиртових заводів і т.п., обсяг 500-10000 м³);

4. Смітники побутових і промислових відходів (обсяг 1-20• 10⁶ м³). Деталі технічного пристрою таких систем можуть сильно розрізнятися. Так, існує кілька конструкцій невеликих реакторів - від найпростішої бродильної ями в ґрунті з фіксованим об'ємом газу до підземних або напівпідземних баків з металевим або гумовим накопичувачем газу з об'ємом, що змінюється. Конструкція таких пристроїв визначається типом сировини, що переробляється. Завдання полягає в тому, щоб не допустити втрати мікроорганізмів при роботі систем. Це досягається або шляхом повторного їхнього використання, або відділом у реактор підтримуючого субстрату, на якому й ростуть клітини.

Переробка сировини в метан відбувається в ході складних взаємодій у змішаних популяціях мікроорганізмів. По особливостях обміну речовин їх можна підрозділити на три основні групи: перша здійснює первинний розпад полімерних речовин, друга утворює летучі жирні кислоти, а третя - метан.

У здійсненні першої стадії процесу беруть участь різноманітні анаеробні бактерії, що перетворюють у розчинні речовини безліч з'єднань, включаючи целюлозу, жири й білки. Ключову роль при цьому грають процеси розкладання целюлози, тому що більшість видів сировини або стічних вод збагачені лігноцелюлозою.

По оптимальній температурі життєдіяльності ці бактерії можна віднести до однієї із трьох груп: *термофільним* організмам, що живуть при 50-60 °С; *мезофільним* (30-40 °С); *психрофільним*, що існують при кімнатній температурі (близько 20 °С).

Більша частина досліджень була виконана для реакторів, що працюють на основі мезофілів. При підвищеній температурі швидкість розпаду вихідної сировини, особливо целюлози, збільшується, а це – важлива перевага. Швидкість утворення метану лімітується інтенсивністю процесів розкладання сировини. Тому час утримання при роботі з деякими субстратами буває значним. Час утримання можна зменшити, якщо підвищити температуру, але це вимагає енерговитрат. Для одержання тепла можна спалювати частину одержуваного метану. Можна використати й теплові залишки супутніх виробництв (наприклад воду, використану для охолодження). Бактерії, що працюють на першому етапі, найкраще ростуть при рН від 6 до 7. У культурі ріст багатьох розкладаючих целюлозу бактерій придушується по механізму зворотного зв'язку при нагромадженні кінцевих продуктів гідролізу, однак у змішаній популяції бактерій, що існує в анаеробному реакторі, відбувається швидке засвоєння цих продуктів і придушення не так виражене. У результаті швидкість руйнування полімерів виявляється вище, ніж можна було б очікувати. Кінцеві продукти, що володіють властивостями інгібіторів,

виділяються за допомогою бактерій другої групи, які перетворюють різні цукри, амінокислоти й жирні кислоти в летучі жирні кислоти, CO_2 і водень. У ході цього процесу утвориться ряд летучих кислот (молочна, оцтова, пропіонова й ін.), але головним субстратом при синтезі метану є оцтова кислота. Метанутворюючі бактерії можуть також синтезувати метан із CO_2 і H_2 . Оптимум рН для них такий же (6-7), що й для бактерій першої групи, і це важливо, оскільки порушення балансу утворення й споживання кислот приведе до падіння рН, якщо система не має достатні буферні властивості. Усяке падіння рН із цієї причини переважно позначається на активності метанутворюючих бактерій, що викликає подальше закислення середовища й припинення утворення метану. Із цим можна боротися, додаючи вапняк й аміачну воду, але при внесенні іонів амонію слід дотримуватися обережності. Метанутворюючі бактерії можуть використати амонійні іони як джерело азоту, але при високих концентраціях азот є інгібітором росту бактерій.

При утворенні метану, коли субстратом є глюкоза, ваговий вихід газу становить близько 27%, а вихід енергії (теоретично) – більше 90%. Однак на практиці через складний склад сировини, що переробляється в анаеробних реакторах і низькою ефективністю його переробки валовий вихід енергії становить від 20 до 50%. Склад газу істотно змінюється залежно від умов у реакторі, а також від природи подаваної в нього сировини. Теоретично при переробці вуглеводів на CO_2 і метан ці гази повинні утворюватися в рівних кількостях. Насправді не весь CO_2 виділяється у вигляді газу, тому що він розчиняється у воді й може взаємодіяти з гідроксил іонами з утворенням бікарбонатів. Концентрація бікарбонату, що утвориться, буде залежати від швидкості потоку рідини, рН, температури й вмісту в рідкій фазі іонів металів й інших речовин.

Кількість бікарбонату, що утвориться, сильно залежить від вмісту білка в сировині: чим він більше, тим більше в біогазі метану. Звичайно біогаз містить 60-70% метану. Він утворюється зі швидкістю $0,5 \text{ м}^3$ на кілограм сухої маси летучих компонентів; час утримання становить близько 15 діб.

В останніх повідомленнях про установки, що переробляють біомасу різної якості, приводяться виходи від $0,17$ до $0,4 \text{ м}^3$ метану на кілограм сухої маси сировини. Швидкість завантаження при цьому становить від 1 до 10 кг сировини на кубометр реактора в добу, час утримання 10-40 доби, а глибина переробки субстрату від 20% до більш ніж 70%.

Питання для самоконтролю:

1. Біоенергетика. Біотехнологічне виробництво етилового спирту.
2. Біотехнологічне виробництво біогазу з нетрадиційної сировини.
3. Біотехнологічне виробництво вуглеводнів. Фотовиробництво водню та перетворення енергії сонячного світла.

4. Яка кількість енергії міститься в непоновлюваних запасах Землі?
5. Яка ефективність використання сонячної енергії при фотосинтезі?
6. Способи використання рослинної сировини як палива.
7. Основні постачальники біомаси, що йде на паливо?
8. Який щорічний приріст біомаси у світі?
9. Основна технологія переробки водяних рослин?
10. Як здійснюється виробництво етилового спирту?
11. Основна сировина для одержання спирту?
12. Одержання метану.
13. Типи установок для одержання біогазу?
14. Ефективність біореакторів при одержанні біогазу?
15. Швидкість перетворення субстрату в біореакторах?

Тема 5 Сільське господарство й біотехнологія

- 1 Перспективи використання біотехнології в сільському господарстві.
- 2 Поліпшення сортів рослин.
- 3 Біологічна фіксація азоту бобовими культурами при симбіозі.
- 4 Біологічний контроль.

1. Перспективи використання біотехнології в сільському господарстві

Прогрес у сільськогосподарському виробництві й виробництві продуктів харчування в цілому залежить від ґрунтових, водних й енергетичних ресурсів, які в принципі можуть бути збільшені, але зазвичай розглядаються як обмежені. Досягнення в цих областях залежать також від поновлюваних біологічних ресурсів, таких, як культурні рослини, свійські тварини й мікроорганізми. Підвищення біологічної продуктивності організмів є предметом активних досліджень природничих наук. Питома вага біотехнологічних методів у цих дослідженнях постійно зростає. Методи біотехнології застосовуються при використанні мікроорганізмів для одержання корисних речовин, готуванні продовольчих продуктів, їхньому консервуванню й поліпшенню живильних властивостей. У цій області зусилля вчених спрямовані на збільшення виходу продукції, підвищення її поживності, збільшення стійкості рослин до несприятливих погодних умов, патогенам і шкідникам поряд з підтримкою достатньої розмаїтості серед культурних видів і збереженням генетичних ресурсів, які закладені в близьких до них диких видах.

Концепції й методи генетики рослин швидко розвиваються завдяки новітнім відкриттям молекулярної біології й особливих властивостей рослин. Тому вона вносить вагомий вклад у проведенні дослідження.

Збільшення обсягів сільськогосподарської продукції повинне здійснюватися економічно прийнятними способами, а також з урахуванням впливу на навколишнє середовище. Розвинені країни можуть дозволити собі в більших масштабах застосовувати хімічні добрива, але багатьом іншим країнам це недоступно, і вони змушені шукати інші шляхи. Основним необхідним для росту елементом є азот. Він в основному газоподібний, але щоб перевести азот у доступну рослинам форму, його треба фіксувати. У ході еволюції виробився ефективний процес біологічної фіксації азоту при симбіозі. Зараз інтенсивно вивчається процес несимбіотичної фіксації азоту, але на практиці він застосовується поки в обмеженому масштабі. Велику увагу звертають до себе біологічні способи постачання рослин фосфором, а також контролю за шкідниками й хворобами рослин.

Розробляються способи вирощування цінних культур у контрольованих умовах. Мабуть, найбільший внесок, що може внести біотехнологія в сільське господарство, - це поліпшення сортів рослин;

істотний прогрес тут буде досягнутий завдяки використанню методів генетичної інженерії й технологій злиття протопластів.

2. Поліпшення сортів рослин

Дослідницька робота із селекції нових високоврожайних сортів хлібних злаків, у першу чергу пшениці, була почата після другої світової війни. Нові сорти пшениці були виведені в Мексиці, рису - на Філіппінах. За 10 років (1960-1970) вони поширилися по всьому світу й сприяли значному підвищенню врожаїв. Став застосовуватися цілий комплекс заходів, спрямованих на збільшення сільськогосподарського виробництва в країнах, що розвиваються, на основі використання нових сортів, особливо пшениці й рису. Ці сорти мають коротке й тверде стебло, добре реагують на внесення добрив і мають стійкість до багатьох розповсюджених захворювань. Для культивування даних сортів крім добрив й якісної сільськогосподарської обробки були потрібні різні пестициди, а також зрошення. Схрещування нових сортів з місцевими витривалими лініями дозволило одержати сорти, ще більш пристосовані до умов району їхнього оброблення й більш високі врожаї.

Досягнуті результати можна віднести до числа досліджень по генетиці й удосконаленню рослин. Використана для їхнього одержання технологія полягала в переносі методом схрещування цілих груп хромосомних детермінант. Оскільки більшість рослин, споживаних у їжу, містить по кілька наборів хромосом (три-, тетра- або навіть гексаплоїдні види), у потомства при таких схрещуваннях може проявлятися досить широкий спектр ознак, а роль селекціонера складається у відборі серед цього потомства особин з потрібними ознаками. Друга зелена революція, про яку почали говорити із середини 1970-х років, хоча вона й не відбулася дотепер, стане результатом досліджень, спрямованих на селекцію й культивування нових рослин, стійких до хвороб, шкідників, і які можна буде вирощувати без застосування добрив і пестицидів. Такого роду дослідження базуються вже не на методах схрещування, перехресної гібридизації й перехресного запилення.

Нові розробки, у яких використовуються культури клітин, протопластів і тканин, а також методи генної інженерії націлені на створення культурних сортів спрямованим впливом на спадкоємні структури й клітинні механізми, які забезпечують біологічну розмаїтість. Нові методи значно скорочують витрати часу й праці, але їм властива й деяка непередбачуваність результатів. Технологія рекомбінантних ДНК і її послідовна адаптація до світу рослин сприяють подоланню бар'єрів, що перешкоджають міжвидовому схрещуванню. Вона дозволяє також збільшити генетичну розмаїтість, якій завдало значної шкоди руйнування середовища перебування диких видів, що у свою чергу зробило багато культивованих видів й сортів надзвичайно уразливими для патогенних

мікроорганізмів і паразитів. Поряд з колекціями насіннь, які дотепер далекі від пропонованих до них вимог, все більшу роль у забезпеченні генетичної мінливості й розмаїтості стануть грати культури клітин і тканин, а також аналіз мільйонів клітинних ліній.

3. Біологічна фіксація азоту бобовими культурами при симбіозі

Зерна багатьох видів бобових багаті білком. Вони є цінною сировиною для виробництва кормів і харчових продуктів. З рослин помірнього клімату можна назвати горох і квасоля. У тропічних і субтропічних зонах культивуються найрізноманітніші культури, включаючи сою, сочевицю, арахіс. Багато бобових - цінні пасовищні культури, наприклад, різні види конюшини. Вони можуть служити зеленим добривом (люцерна), дають нам лісоматеріали, що клеять речовини, волокна, ліки й пряності. Роль бобових визначається ще й тим, що вони здатні фіксувати азот атмосфери в корневих бульбах, які формуються при участі ґрунтових бактерій роду *Rhizobium*. Азотисті речовини, що утворюються в них, необхідні для росту рослин.

Про участь бульбових бактерій у симбіогенній фіксації атмосферного азоту стало відомо порівняно недавно (приблизно 100 років тому). Культура, з якої можна одержувати багаті білком харчові продукти і яка не вимагає (або вимагає дуже мало) азотних добрив, безсумнівно вигідна, і бобові стали важливою сільськогосподарською культурою в Європі, у Північній Америці й на інших континентах.

Встановлено, що бобові, грають важливу роль у сільському господарстві та приблизно 98% видів з них можуть утворювати бульбочки. У диких видів вони найчастіше формуються при участі особливих різновидів бактерій-ризобій, що існують у природному середовищі. Якщо якийсь вид бобових довго росте на одному місці, це приводить до поступового нагромадження в ґрунті співіснуючих з ним різновидів ризобій. Урожай нерідко залежить від того, чи утворилася в даному місці ефективна асоціація з рослини й відповідного різновиду *Rhizobium*. Потрібний штам не завжди є присутнім у тому місці, де передбачається вирощувати дану культуру, і в такому випадку його доводиться вносити в ґрунт. Як тільки стала ясна роль симбіозу бактерій роду *Rhizobium* і бобових, були розроблені способи внесення цих бактерій у ґрунт для поліпшення умов культивування. Їх стали додавати також і до насіннь. Витрати на впровадження цього способу інокуляції невеликі, транспортні витрати незначні, а самі методи досить нескладні, щоб їх можна було впровадити в сільське господарство країн, що розвиваються, де висока вартість добрив. Вирощування бобових із застосуванням методу інокуляції насіннь нерідко сприятливо позначається на стані навколишнього середовища: воно допомагає боротися з опустелюванням,

полегшує боротьбу з ерозією ґрунтів, зменшує перенос ґрунту вітром і дозволяє з більшим успіхом відновлювати виснажені землі.

Більшість утворюючих бульбочки бобових здатні повністю задовольнити свої потреби в азоті. Однак це буває тільки тоді, коли й інші умови сприяють росту рослин, тобто рослини одержують досить води й інших живильних речовин. Найбільш простий спосіб інокуляції заснований на використанні ґрунту, взятого з полів, де обрана для вирощування культура бобових росте добре. Цей спосіб широко застосовувався ще наприкінці ХІХ століття. Недолік його полягав у тому, що при цьому доводиться переміщати багато ґрунту, тому що *Rhizobium* становлять лише малу частину мікрофлори й незначну частину самого ґрунту. В Америці звичайно вносили 100-1000 кг ґрунту на 1 га. Брали цей ґрунт із розташованого неподалік поля, де був отриманий гарний урожай потрібної бобової культури. Ще один недолік цього методу – можливість поширення із ґрунтом хвороб рослин. Набагато менше ґрунту необхідно вносити за допомогою сівалок, коли бактерії попадають прямо до насіння, де вони потрібніше всього. На основі цього простого способу був розроблений метод прямої інокуляції насіння. Спочатку застосовували здрібнений ґрунт (усього приблизно 0,5 кг ґрунту на 1 кг насіння), а потім стали використовувати методи, засновані на введенні чистих культур бактерій.

Перший різновид комерційної культури для інокуляції був запатентований в 1896р. Вона надходила на ринок за назвою «Nitragin». Для різних бобових випускалося 17 її варіантів. Вже в 20-х рр. ХХ століття на ринок надходило багато інших різновидів інокулянтів. Деякі з них являли собою чисті культури бактерій, змішані із ґрунтом, піском, торфом, гноєм або здрібненою породою, інші – культури, вирощені на агарі або в рідкому середовищі.

Суть методу інокуляції насіння полягає в тому, що на насіння наносять велику кількість клітин *Rhizobium*, що відповідають певному виду рослини-хазяїна, що збільшує ймовірність швидкого утворення бульбочок у проростків при участі даних мікроорганізмів. Для цього потрібно досить багато бактерій, які повинні зберігати життєздатність доти, поки в ґрунті вони не проникнуть у кореневі волоски. Для прямої інокуляції насіння придатні культури *Rhizobium*, вирощені в пробірках або колбах на середовищі з агаром. *Rhizobium*, вирощені на агарі або в рідкому середовищі, після висушування на поверхні насіння швидко гинуть, та й самі культури їх нежиттєстійкі. Цих недоліків позбавлені інокулянти на торф'яній основі, які були створені в США, і зараз застосовуються повсюдно.

При одержанні культури потрібного штаму *Rhizobium* вирощують звичайним способом у ферментері обсягом кілька літрів у рідкому середовищі. До моменту змішування з торфом (носієм) -щільність

культури повинна бути досить високої, $5 \cdot 10^8 - 10^9$ клітин/моль. У випадку повільно зростаючих штамів, із середнім часом подвоєння числа клітин близько 10 годин, звичайно буває складно одержати культуру з високою щільністю, і нерідко навіть розмноження більш швидко зростаючих штамів придушується видами - забруднювачами. Для забезпечення швидкого росту культури на рідкому середовищі корисно вносити відразу багато бактерій. При готуванні носія для *Rhizobium* торф висушують або при звичайній температурі, або при обережному нагріванні до вологості ~10%, потім подрібнюють за допомогою млина й доводять до рН 6,5-7, додаючи CaCO₃. Ріст і виживання бактерій у торфі залежать від багатьох факторів. Тому на кожній партії торфу для одержання інокулятив проводять пробні вирощування саме тих штамів, які передбачається використовувати.

Твердий інокулят складається з бактерій і носія, роль яких полягає в підтримці життєздатності клітин, оскільки він частково захищає їх від пересихання. Крім того, носій сприяє більш рівномірному розподілу бактерій у масі насіння і допомагає їм прикріпитися до поверхні насіння. Хоча у випадку бактеріальних суспензій нерідко одержують гарні результати, вважається, що застосування торфу як носія більш ефективно: тому що при використанні рідких культур або ж суспензій клітини *Rhizobium* після інокуляції й прикріплення їх до поверхні насіння виявляються практично беззахисними. Тому при виробництві комерційних інокулятив спочатку найчастіше використали саме торф. Однак торф є далеко не скрізь, а якщо він є, то сказати заздалегідь, чи придатний він як носій, неможливо. У зв'язку із цим були початі пошуки альтернативних носіїв з такими ж захисними властивостями, як у торфу. З неоднаковим успіхом для цієї мети були випробувані всілякі композиції: різноманітні суміші ґрунту й торфу, здрібнена солома, нільський іл з добавками живильних речовин, кокосові пластівці, деревне вугілля. Сьогодні для підтримки життєздатності *Rhizobium* одержують носії з найрізноманітніших речовин, але кращим носієм все-таки є торф. У деяких регіонах, наприклад у країнах, що розвиваються, певну цінність можуть представляти дешеві місцеві замітники торфу.

Самий простий але найбільш ефективний метод інокуляції – змішування сухого інокулята й насіння перед посівом. При цьому до насіння прикріплюється мало бактеріальних клітин, більша частина їх губиться, і необхідна умова нанесення достатнього числа клітин *Rhizobium* на насіння не виконується. Тому краще вносити інокулят у вигляді водної кашки. Добре прилипає до насіння інокулят на торфі, особливо якщо додати до нього водорозчинний клей (карбоксиметилцелюлозу). При цьому підвищується виживуваність бактерій після висушування насіння. Симбіотичні відносини, що приводять до фіксації азоту, - це найбільш ефективний спосіб біологічного утворення аміаку, споживаного

сільськогосподарськими культурами. Впливаючи на них можна досягти значного прогресу у використанні біологічної фіксації азоту для виробництва харчових продуктів. Для розширення масштабів й ефективності систем фіксації азоту необхідно глибше зрозуміти генетику бактерій *Rhizobium*, щоб не залежати настільки сильно від природних систем симбіозу, а формувати їх за участю будь-якого бажаного виду рослин, уживаних у їжу.

4. Біологічний контроль

Уже на самому початку розвитку мікробіології стало відомо, що одні мікроорганізми можуть придушувати ріст інших (біологічний контроль). Найбільш важливим результатом інтенсивних досліджень у цій області було відкриття антибіотиків і розробка способів їхнього застосування в клініці. Велику увагу залучила до себе можливість використання одних мікроорганізмів для регуляції чисельності популяцій інших завдяки дії антагоністичних або конкурентних механізмів. Біологічний контроль здійснюється в природі й допомагає запобігти хворобам рослин, але ми далеко не завжди розуміємо, який його механізм й як ним можна керувати з користю для сільського господарства. Успіхи в цій практичній області досліджень досить незначні, тому що занадто мало зусиль зроблено для вивчення поведінки змішаних популяцій мікроорганізмів у ґрунті й на поверхні рослин.

Є приклади систем біологічного контролю, які можна вважати біотехнологічними. Наприклад: відома антагоністична активність гриба *Trichoderma*. Якщо внести у вологий ґрунт значну кількість *Trichoderma lignorum*, то він придушить випрівання проростків (хвороба «чорна ніжка»), головним чином завдяки дії токсину, яким можна виділити з фільтратів культур гриба. Відомо, що інші види *Trichoderma* вступають в антагонізм або прямо паразитують на багатьох грибах і здатні істотно знижувати захворюваність, викликану через ґрунтових патогенів рослин. У Європі базидіоміцет *Fomes annosus* є основним збудником серцевинної гнилизни хвойних, особливо ялин. Він вражає також листяні породи й лісоматеріали. Зараження цим грибом соснових пеньків теж небажане, тому що інфекція поширюється на їхнє коріння, а потім і на корінь сусідніх здорових дерев. Заселення пеньків цим грибом можна запобігти, засіявши їхніми конкурентами іншого гриба – базидіоміцета, *Peniophora gigantea*. Гриб розростається на пеньках, і, контактуючи з *Fomes annosus*, придушує розвиток серцевинної гнилизни. Швидше за все будь-який організм, обраний у майбутньому для здійснення біологічного контролю, буде діяти на патогени двояким способом: або утворюючи речовини-інгібітори, або конкуруючи за живильні речовини.

5. Біотехнологічні альтернативи у сільському господарстві **Пробіотики**

Антибіотики, що використовуються у тваринництві все частіше та все більш невпорядковано, приводять до широкого розповсюдження у мікробних популяціях фактора стійкості до них.

Останніми десятиріччями як безпечна альтернатива антибіотикам для попередження і для лікування шлункових розладів у тварин та людини розглядають препарати молочнокислих бактерій (пробіотики).

Запропоновано препарати, що складаються з індивідуальної або змішаної культури молочнокислих бактерій *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus bifidus* та *Streptococcus faecium* з додаванням вітамінів.

Антибактеріальна роль молочнокислих бактерій зумовлена їх здатністю: виробляти достатню кількість кислоти, щоб пригнічувати інші мікроорганізми; прикріплюватись до кишкових ворсинок, "витісняючи" інші бактерії; виробляти метаболіти, які нейтралізують токсини систем травлення тварин та людини.

Добрива стали досить дорогими, спричиняють хімічне забруднення довкілля, тому увагу науковців сконцентровано на альтернативах азотних добривах, до яких належить азотфіксація.

Досліджують бактерії, здатні вступати у симбіотичні відношення з бобовими рослинами (горох, люпин, соя, люцерна, конюшина тощо). До таких бактерій належать бактерії роду *Rhizobium*, виділені з корневих бульбочок бобових.

Усі види *Rhizobium* мають значну специфічність щодо рослини-господаря.

Види *Rhizobium* заражають клітини коренів бобових, стимулюють їх поділ для утворення молодих бульбочок, всередині яких вони розвиваються як внутрішньоклітинні симбіонти та фіксують атмосферний азот. Окремо ні бобові, ні бактерії *Rhizobium* не можуть засвоювати азот.

Для інтенсифікації процесу азотфіксації бобові попередньо інокулюють специфічними симбіонтами. Препарати азотфіксуючих мікроорганізмів виробляють у різних видах: у рідкому та замороженому, ліофілізованому, на торфовому носії. Використовують також як носії вугільний пил, буряковий жом. Ефективний носій має бути нетоксичним, мати високу адсорбційну здатність, легко змішуватись та стерилізуватись, бути недорогим.

Існує два основних способи, якими можна інокулювати бобові рослини препаратами ризобактерій: пряме внесення у ґрунт разом з насінням та попередня інокуляція насіння перед посівом.

Бактеріальне добриво, що містить активну культуру *Rhizobium*, називається нітрагін. Вперше нітрагін в Росії був приготований у 1911 р. бактеріолого-агрономічною станцією у Москві.

Існують також вільноіснуючі азотфіксатори: *Clostridium pasteurianum*, *Azotobacter chroococcum*. На основі останнього розроблено препарат азотобактерин для обробки насіння.

Виробництво силосу

Для успішного здійснення процесу силосування використовують *силосні добавки*. За їх дією на процес ферментації добавки поділяють на дві групи: інгібітори та стимулятори ферментації. *Інгібітори* – це кислотні добавки (сірчана та мурашина кислоти) та консерванти (формальдегід).

Стимулятори – джерела вуглеводів (патока, барда), добавки молочнокислих бактерій чи ферментів.

Критеріями для включення молочнокислих бактерій у силосні добавки виступають:

- швидкий ріст та здатність до швидкого домінування над іншою мікрофлорою;
- гомоферментативність;
- стійкість до кислот, хоча б при рН 4;
- здатність зброджувати гексози, пентози;
- здатність до росту при температурі до 50 °С.
- Зазвичай молочнокислі бактерії, що входять до складу біологічних добавок при силосуванні, представлені *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*.

Природні методи боротьби зі шкідниками. Біопестициди

Існують п'ять основних категорій природних або біологічних методів боротьби з шкідниками.

1. Боротьба за допомогою природних ворогів.

Переваги ентомопатогенних препаратів біологічного походження: мають високу специфічність, не чинять пригнічуючого впливу на рослини.

Як мікробні пестициди використовують бактерії, гриби, віруси, інші організми.

Відомо понад 90 видів бактерій, що інфікують комах. Більша частина належить сімействам *Pseudomonadaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Bacillaceae*.

Основна частина ентомопатогенних препаратів виготовлена з *Bacillus thuringiensis* (Bt). Перший промисловий продукт був виготовлений у Франції у 1938 р. Препарати Bt становлять 0,1 % світового виробництва пестицидів, але більше 90 % всіх мікробних пестицидів. Різні штами використовують проти гусені, метеликів, комарів, мошки, молі.

Відомо понад 400 видів грибів, що заражають комах та кліщів. Гриб *Beauveria bassiana* діє на колорадського жука у вигляді препарату під назвою боверін.

Вірусні ентомопатогенні препарати здатні вражати ядра та ліпідні структури комах; їх виробляють у вигляді препарату „вірин” (діє на капустяну совку, білого американського метелика).

2. *Селекція та генетичні методи боротьби.* Їх основу становить розвиток у видів-господарів стійкості до ураження. Цей метод широко використовують щодо пригнічення грибкових, вірусних та бактеріальних хвороб рослин.

3. *Використання стерильних самців.* Цей метод передбачає масове розповсюдження у природній популяції спеціально оброблених особин комах, не здатних до запліднення та отримання потомства.

4. *Культурні методи боротьби.* Являють собою нехімічну зміну одного або кількох факторів навколишнього середовища таким чином, що воно стає непридатним для шкідників або вони не можуть в нього проникнути:

а) санітарно-гігієнічна боротьба зі шкідниками;

б) агротехнічна боротьба з шкідниками газонів, садів та полів (рослини слід вирощувати в оптимальних для них умовах; регулювання часу сівби; знищення залишків сільськогосподарських культур; введення сівозміни; митний контроль та карантин тощо).

5. *Природні засоби хімічної боротьби.* Передбачають використання феромонів – речовин, що виділяються організмом у зовнішнє середовище для впливу на поведінку інших особин свого виду. Переваги природних хімікатів: висока специфічність; нетоксичність.

Перевагою всіх названих методів є те, що вони спрямовані лише на підтримання кількості шкідників нижче небезпечного рівня, але не на повне їх знищення, щоб не порушити екологічний баланс.

Найраціональнішим є використання комплексного підходу боротьби із шкідниками, який поєднує в собі різні методи.

Питання для самоконтролю:

1. Перспективи використання біотехнології в сільському господарстві
2. Поліпшення сортів рослин
3. Роль бобових культур у сільському господарстві
4. Методи підвищення вмісту азоту в ґрунті.
5. Методи інокуляції насіння азотфіксуючими бактеріями.
6. Біологічний контроль.
7. Біотехнологічні альтернативи у сільському господарстві. Пробіотики.
8. Бактерії – симбіонти бобових. Бактеріальні добрива – азотобактерин та нітрагін.
9. Виробництво силосу. Силосні добавки.
10. Критерії для включення молочнокислих бактерій у силосні добавки.
11. Загальна характеристика біологічних методів боротьби із шкідниками.
12. Мікробні пестициди.

Тема 6 Навколишнє середовище й біотехнологія

- 1 Роль біотехнології в охороні навколишнього середовища.
- 2 Біотехнологічна переробка відходів.
- 3 Добування корисних речовин з відходів.

1. Роль біотехнології в охороні навколишнього середовища

З моменту виникнення цивілізованого суспільства перед ним увесь час стояла проблема охорони навколишнього середовища. Через промислову, сільськогосподарську й побутову діяльність людини постійно відбувалися зміни фізичних, хімічних і біологічних властивостей навколишнього середовища, причому багато які з цих змін були досить несприятливі.

Очікується, що біотехнологія буде мати різноманітний і все зростаючий вплив на способи контролю за навколишнім середовищем і на його стан. Гарним прикладом такого роду служить впровадження нових, більш досконалих методів переробки відходів, однак цим застосування біотехнології в даній сфері аж ніяк не обмежується. Вона буде грати все більшу роль у хімічній промисловості й сільському господарстві й допоможе хоча б частково вирішити багато з існуючих проблем.

Сьогодні швидко розвиваються різноманітні галузі промисловості, у яких процеси життєдіяльності мікробів використовуються для створення замкнених систем, для контролю за забрудненням стічних вод, для використання альтернативних енергоресурсів і хімічної сировини в промисловості; ці процеси широко використовуються і в сільському господарстві.

Для переробки відходів уже побудовані величезні біореактори ємністю 4000-5000 м³. Оскільки потенціал бактерій у такому реакторі може бути порядку 10⁸-10⁹ клітин в 1 молі, біотехнології одержують у своє розпорядження досить потужне джерело «біологічної енергії». Біотехнологічна переробка відходів опирається на цілий ряд дисциплін (наук) - біохімію, генетику, хімію, мікробіологію, хімічну технологію й обчислювальну техніку. Зусилля всіх цих дисциплін (наук) концентруються на трьох основних напрямках:

1. деградація органічних і неорганічних токсичних відходів;
2. поновлення ресурсів для повернення в колообіг речовин вуглецю, азоту, фосфору й сірки;
3. одержання цінних видів органічного палива.

2. Біотехнологічна переробка відходів

Тисячоріччями відходи діяльності людини перероблялися природним шляхом, при участі відповідних мікроорганізмів. У найбільше широко розповсюджених установках для очищення стічних вод виконуються чотири основні операції:

1. При первинній обробці виділяються тверді частки, які або відкидаються, або направляються в біореактор.

2. На другому етапі відбувається руйнування розчинених органічних речовин при участі природних аеробних мікроорганізмів. Мул, що утворюється складається головним чином з мікробних клітин виділяється, або перекачується в реактор.

3. На третьому етапі (необов'язковому) відбувається хімічне осадження й поділ фосфору й азоту.

4. Для переробки мулу, що утвориться на першому й другому етапах, звичайно використовується процес анаеробного розкладання. При цьому зменшується обсяг осаду й кількість патогенів, і крім того, утвориться цінне органічне паливо - метан.

Подібні процеси застосовуються при переробці промислових стічних вод, особливо в хімічній, харчовій, целюлозно-паперовій промисловості. Тому будь-які біотехнологічні вдосконалення цих процесів знаходять негайне застосування в промисловості. Такі вдосконалення можуть бути спрямовані на збільшення потужності переробних установок, підвищення виходу корисних побічних продуктів, на заміну зазвичай застосовуваних синтетичних хімічних добавок, усунення й видалення металів, а також сполук, що не піддаються переробці.

Аеробна переробка стоків - це сама велика область контрольованого використання мікроорганізмів у біотехнології. Відмінною рисою аеробної біологічної системи є вільний доступ повітря до аеробних мікроорганізмів, що приймають участь у перетворенні різних речовин, що втримуються у відходах, у відносно стабільні продукти. Аеробна переробка відходів включає наступні стадії:

1. Адсорбція субстрату на клітинній поверхні;
2. Розщеплення адсорбованого субстрату позаклітинними ферментами;
3. Поглинання розчинених речовин клітками;
4. Ріст;
5. Вивільнення продуктів;
6. «Виїдання» первинної популяції організмів вторинними споживачами.

В ідеалі це повинно приводити до повної мінералізації відходів до простих мінеральних солей, газів і води. Ефективність переробки пропорційна кількості біомаси й часу контактування її з відходами. Системи аеробної переробки можна розділити на системи з перколяційними фільтрами й системи з використанням активного мулу. Перколяційний фільтр був найпершою системою, застосованою для біологічної переробки відходів, причому його конструкція фактично не змінилася із часу створення в 1890 р. Ця система використовується в 70% очисних споруд Європи й Америки й володіє рядом переваг, які полягають

в простоті, надійності, малих експлуатаційних витратах, утворенні невеликих надлишків біомаси й можливості тривалого використання установки (протягом 30-50 років). Фільтруючими елементами у фільтрах є гравій або пластмаси. Використання пластмас дозволяє застосовувати такі системи для переробки деяких промислових стоків високої концентрації. Іншою важливою перевагою є те, що пластмаси - легкий матеріал, і це дозволяє будувати високі, що не займають багато місця очисні спорудження. Для створення оптимальної поверхневої площі, вентиляції й пористості пластмаси розмелюють. Основна зміна в конструкцію очисних споруд було внесена в 1973 році (в Англії), коли був створений обертовий біологічний реактор. Він являє собою обертові ємкості із пластикових смуг, занурюють поперемінно в стічні води й піднімають на поверхню. При такому способі збільшується площа поверхні, з якої може контактувати біомаса, і поліпшується аерація. Основний недолік перколяційного фільтра - надлишковий ріст на ньому мікроорганізмів; це погіршує вентиляцію, обмежує протікання рідини й приводить в остаточному підсумку до засмічення фільтра й виходу його з ладу.

Активний мул. Переробка відходів за допомогою активного мулу, здійснювана складною сумішню мікроорганізмів, була запропонована в 1914 р. Цей процес більш ефективний, ніж фільтрація, і дозволяє переробляти стічні води в кількості, у десять разів перевищуючий обсяг реактора. Однак він володіє рядом недоліків: більш високими експлуатаційними витратами через необхідність перемішування й аерації; більшими труднощами в здійсненні й підтримці процесу; утворенням великого надлишку біомаси. Незважаючи на все це, процес, що використовує активний мул, залишається найпоширенішим методом переробки стічних вод у густонаселених районах, оскільки вимагає менших площ, ніж еквівалентна фільтраційна система.

Ефективність даного процесу можна підвищити, вивчивши механізми регуляції метаболізму в мікрофлорі систем з активним мулом. Регуляція біодеградації - це складне завдання. Однак, знаючи біохімію відповідних процесів, можна втручатися в їхню регуляцію. Наприклад, додавання до мулу проміжних продуктів циклу трикарбонових кислот у низьких концентраціях (2-5 мг/л), глюкози, амінокислот і вітамінів (зокрема, аланіну і нікотинової кислоти) приводить до прискорення окислювання ряду сполук.

Все зростаюча вартість переробки відходів за допомогою аеробного розкладання й енергетична криза, з одного боку, і нові досягнення мікробіології й технології – з іншої, відродили інтерес до анаеробної переробки. При переробці органічних відходів в анаеробних умовах утвориться горючий газ і твердий залишок, що містить азот й інші живильні речовини, що втримуються у вихідному рослинному матеріалі. У природі такий процес розвивається при нестачі кисню в місцях скупчення

речовин рослинного або тваринного походження. Він може протікати й у закритій ємності, наповненій підходящою органічною речовиною, куди не надходить повітря. Метаноутворюючі бактерії й деякі інші мікроорганізми, продукуючі потрібні цим бактеріям субстрати, формують у таких умовах систему міцних симбіотичних відносин, що може функціонувати довгий час, якщо до неї у підходящій кількості надходять все нові порції відходів. Найпоширеніша технологія анаеробної переробки – розкладання мулу стічних вод. Ця добре розроблена технологія з успіхом використовується з 1901 р. Однак тут існує ряд проблем, обумовлених малою швидкістю росту облигатних анаеробних метаноутворюючих бактерій, які використовуються в даній системі. Конверсія субстрату також відбувається досить повільно й тому обходиться дорого. Проте, цей підхід представляється **перспективним** з погляду біотехнології; наприклад, можна додати до відходів ферменти для підвищення ефективності процесу або спробувати підсилити контроль за переробкою шляхом зміни тих або інших біологічних параметрів. Анаеробна ферментація відходів або рослинних культур, спеціально вирощуваних для одержання енергії, дуже перспективна для економічного одержання газоподібного палива при помірних температурах (30-35 °C). Для одержання енергії й корисних побічних продуктів можна використати найрізноманітніші відходи й сировину. Деякі країни, наприклад Бразилія, Австралія й Нова Зеландія використовують спеціально вирощувані культури як джерело палива. Подібні проекти обговорюються й у деяких європейських країнах, наприклад у Фінляндії, Швеції й Ірландії. В Англії робота з біоконверсії енергії проводиться в рамках Програми по використанню сонячної енергії; за рахунок цієї програми фінансуються й проекти ЄС по одержанню енергії біологічними способами.

Багато підходів використовується в США; наприклад, одне очисне спорудження за рахунок біологічної конверсії побутового сміття дозволяє одержувати газ у кількості, достатній для забезпечення ним 12 тис. будинків. Анаеробні ферментери можуть застосовуватися також з метою одержання проміжних продуктів для хімічної промисловості (наприклад, оцтової, молочної й акрилової кислот як хімічної сировини, що йде на переробку).

3. Добування корисних речовин з відходів

Одне з головних завдань технології, пов'язаної з навколишнім середовищем, - це збереження природних ресурсів шляхом повторного використання корисних речовин, що містяться у відходах. Деякі розробки в цій сфері одержали фінансову підтримку з боку урядів і це принесло свої плоди, але все-таки поки вихід кінцевих продуктів і вартість повторного використання біомаси в широких масштабах такі, що ця технологія виявляється економічно не вигідною. Проте, вона знаходить застосування

при одержанні таких цінних продуктів, як масла, метали, вітаміни й пептиди. Одержання корисних матеріалів з відходів має **два** аспекти: **добування** або концентрування корисних речовин з відходів; перетворення відходів у корисні матеріали.

Вода. Воду можна розглядати як поновлюваний ресурс. Однак, порівнюючи вартість необхідного для очищення устаткування з вартістю водопровідної води, очищення забрудненої органічними речовинами води звичайно вважають економічно неоправданим.

Повторне використання промислових стічних вод економічно оправдане тільки в такій промисловості: енергетика, сталеливарне виробництво, вуглевидобувна промисловість. Тут можна застосовувати не таку чисту воду, як питна, і тому звести до мінімуму обробку стічних вод. Основні труднощі пов'язані з наявністю сполук, що не піддаються переробці. Можливо, цю проблему вдасться вирішити, використовуючи мікроорганізми, які отримали здатність руйнувати такі сполуки.

Добрива. Потреба в більш дешевих високоякісних білках тваринного походження безупинно зростає, а число працівників сільського господарства увесь час зменшується. Для вирішення цього протиріччя потрібно застосовувати більш інтенсивні методи землекористування, і тоді можна одержати усе більше концентрованих відходів, які застосовуються як добрива. Однак за останні 100 років масштаби використання відходів тваринництва як добрива зменшилися; на зміну їм прийшли фосфорні й азотні добрива, при одержанні яких використовується викопне паливо. У країнах Західної Європи значну частину сільськогосподарської продукції (до 40% від загальної вартості) одержують саме за рахунок застосування хімічних добрив. Однак ціни на такі добрива увесь час ростуть, і стає економічно вигідним використання відходів тваринництва як органічного добрива.

Корми для тварин. У результаті людської діяльності та інтенсивного тваринництва утворюється величезна кількість відходів. При їхній переробці можна одержати багато тонн активного мулу. У процесі переробки відходів при участі мікроорганізмів утвориться багато мікробного білка, який можна повторно використати як корм для худоби, оскільки 30-40% сухої маси вирослих клітин - це неочищений білок. Однак побутові й сільськогосподарські відходи, очевидно, непридатні для промислового одержання білка. Це пов'язане з їх низькою харчовою цінністю й з необхідністю одержання продукту, вільного від токсичних речовин і патогенних мікроорганізмів. Ідеальним результатом підвищення якості мулу стічних вод шляхом екстракції білка повинен бути нешкідливий, чистий, економічний корм для тварин. Крім того, у мулі утворюються й інші цінні біологічні сполуки, наприклад амінокислоти й вітаміни.

4. Практичні напрями екологічної біотехнології. Очищення стічних вод

Аеробні процеси очищення стічних вод

Процес очищення стоків можна зобразити у вигляді схеми 4:



Процес біологічного очищення стічних вод в аеротенках охоплює три стадії. На першій відбуваються змішування стоків з активним мулом, окиснення легко окиснювальних речовин; на другій – окиснення важко окиснювальних речовин та регенерація активного мулу, на третій – процес нітрифікації амонійних солей.

Термін “активний” щодо мулу означає, що біомаса:

- являє собою мікрофлору, що містить всі ферментні системи, необхідні для деградації забруднень;
- має поверхню з сильною адсорбційною здатністю;
- здатна утворювати стабільні флокули, які легко осаджуються у процесі відстоювання.

Основні показники активного мулу

Активний мул аеротенків має вигляд жовтувато-бурих пластівців, що містять різні види організмів. До складу активного мулу входять бактерії, гриби, найпростіші, черви, коловертки тощо.

Концентрація мулу, г/л, яка залежно від типу стоків, особливостей процесу очищення, перебуває в межах 1,5 – 5 г/л.

Муловий індекс дорівнює об’єму, що його займає 1 г активного мулу після півгодинного відстоювання (у перерахунку на сухі речовини).

Навантаження на активний мул за органічними речовинами P , мг БСК/г.добу:

$$P = \text{БСК} / a \cdot t,$$

де a – кількість активного мулу, г/л; БСК – біологічне споживання кисню, г/л; t – тривалість аерації, діб.

Вік мулу T , діб:

$$T = aV / QP,$$

де V – об’єм аеротенка, м³; Q – об’єм стоків, що надходить в аеротенк, м³/добу; P – приріст мулу, г/л.

Залежно від виду стоків мул проявляє уреазну, ліполітичну, амілазну або загальну дегідрогеназну ферментативні активності.

Аеротенки класифікують за такими ознаками:

- за структурою потоку – аеротенки-витискувачі, аеротенки-змішувачі та аеротенки з розосередженим впуском стічної рідини;
- за способом регенерації активного мулу – аеротенки з окремо розташованими регенераторами мулу; аеротенки, сполучені з регенераторами;
- за навантаженням на активний мул – високонавантажені, звичайні та низько навантажені;
- за числом ступенів – одно-, дво- та багатоступеневі;
- за конструктивними ознаками – прямокутні, круглі, комбіновані, протиточні тощо;
- за типом систем аерації – з пневматичною, механічною, комбінованою гідродинамічною та пневмомеханічною.

Пневматична система – повітря нагнітається в аеротенк під тиском через фільтросні пластини та труби, диски, тканинні аератори тощо.

При *механічній* системі аерації повітря залучається в аеротенк під час обертання у ньому рідини мішалкою-аератором.

На схемах потоків у різних аеротенках (рис. 2) а – аеротенк-витискувач; б – змішувач; в – з розподіленим впуском води; г – з регенератором; 1 – аеротенк; 2 – вторинний відстійник; 3 – регенератор; I – стічна вода; II – активний мул; III – мулова суміш.

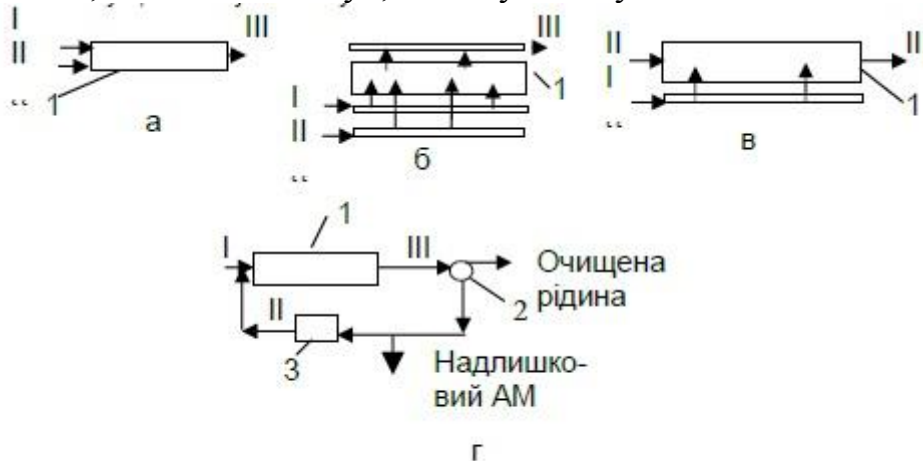


Рис. 2

Біофільтри являють собою споруди, в яких очищення проводять пропусканням стоків через крупнозернистий фільтрувальний матеріал, покритий біологічною плівкою, утвореною колоніями аеробних мікроорганізмів.

Біофільтри безперервної дії за пропускнуою здатністю можуть бути поділені на крапельні та високонавантажені.

Крапельні біофільтри іноді називають зрошувальними, або перколяторними; в них повітря надходить природним шляхом.

Високонавантажені біофільтри відрізняються від крапельних значно більшим навантаженням стічних вод. *Конструктивними відмінностями є:*

- збільшення крупності зернин завантаженого матеріалу;
- штучна продувка матеріалу завантаження повітрям;
- збільшення висоти шару фільтрувального завантаження.

До експлуатаційних особливостей належать:

- обов'язкове зрошення всієї поверхні біофільтрів надходжуваною водою і зменшення тривалості перерв у подаванні води на поверхню;
- збільшення навантаження по воді;
- введення рециркуляції стоків.

Високонавантажені біофільтри класифікують за такими ознаками.

- за принципом дії – такі, що працюють з повним або з неповним біоочищенням;
- за способом подавання повітря – з природною та штучною аерацією;
- за режимом роботи – з рециркуляцією та без рециркуляції;
- за числом ступенів – одно- та двоступеневі;
- за висотою – низькі – до 2 м, високі – від 2 м і вище;
- за конструктивними особливостям завантаження – з об'ємним (щебінь, керамзит, гравій) та з площинним завантаженням (металеві сітки, пластмасові плівки, синтетичні тканини тощо).

Анаеробні процеси очищення стічних вод

Анаеробні процеси мають цілий ряд надзвичайно важливих *переваг:*

По-перше, розширюється діапазон стічних вод, придатних до біологічного очищення: можливе ефективне очищення стоків з ХСК більше 1 – 2 г/л;

По-друге, очищення здійснюється з меншим споживанням біогенних добавок. Так, стічні води із співвідношенням БСК₅:N:P, що дорівнює (300 – 500):7:1, цілком придатні для анаеробного очищення, тоді як аеробна технологія потребувала б доведенням цього співвідношення до 100:5:1;

По-третьє, наявність експлуатаційних переваг: ліквідує необхідність установки повітродувок та живлення їх електроенергією; позбавляє проблем, пов'язаних з піноутворенням у процесі оброблення стоків, що містять поверхнево-активні речовини; підвищує стійкість біологічних систем до тривалих перерв у живленні стічною водою; полегшує автоматизований контроль та керування процесом біологічного очищення; дозволяє зменшити площу очисної станції.

По-четверте, полегшується утилізація кінцевих продуктів біологічного очищення, даючи змогу значно скоротити кількість

утвореного мулу; використовувати без попереднього санітарного оброблення надлишкову біомасу від реакторів, що працюють у термофільному режимі, як добриво або добавку до комбікорму; отримувати біогаз, що містить близько 70 % метану та є альтернативним паливом.

Недоліком експлуатації анаеробних установок є довготривалість періоду їх первинного запуску, зумовлена відносно повільним ростом анаеробів порівняно з аеробами; необхідність доочищення стоків після метантенків, що пов'язано з накопиченням проміжних продуктів бродіння.

Для *інтенсифікації* процесу бродіння мікроорганізми закріплюють на поверхні якогось носія; використовують UASB-реактори – з висхідним потоком стічної води крізь шар анаеробного активного мулу.

5. Тверді відходи

Невід'ємною вадю життєдіяльності суспільства є утворення відходів. Пошук способів їх ліквідації, безпечних для здоров'я населення і таких, що не забруднюють довкілля, являє собою одне з першочергових завдань. В галузі переробки та ліквідації твердих відходів біотехнологічними методами одне з найзначніших місць як за вартістю, так і за об'ємними показниками належить утилізації мулу стоків та твердих комунальних відходів.

Так, кількість твердих відходів, що утворюються в результаті перероблення стоків, у Франції дорівнює 800 тис. т на рік (за сухими речовинами), у Великобританії – 1240 тис., у США – 4500 тис. Існує ряд осадів з різними характеристиками, що зумовлені їх природою та ступенем переробки:

- первинний – утворюється у первинному відстійнику;
- гумований – надлишкова біологічна плівка з крапельних біофільтрів;
- активний – флокульована біомаса, що утворюється при очищенні стоків активним мулом;
- вторинний – активний або гумований мул;
- сирий мул – не оброблений жодним зі способів.

Переробка мулу

Концентрування. Різні типи сирих осадів стічних вод спершу не мають високої концентрації твердих компонентів. Тому згідно з сучасними теоріями утилізації мулу, слід забезпечувати певний ступінь зневоднення ще до початку основних процесів перероблення. Це досягається відстоюванням, центрифугуванням, флотацією, фільтруванням тощо.

Модифікація мулу здійснюється додаванням хімікатів, що діють як коагулянти або флокулянти. Це неорганічні солі або органічні полімери з різною молекулярною масою та властивостями.

Анаеробне збродження – витримування мулу в анаеробних умовах протягом тривалого часу при температурі 30 – 37 оС або 45 – 50 оС.

Аеробна стабілізація мулу – це тривале оброблення мулу в спорудах типу аеротенків-стабілізаторів, у процесі якої відбувається окиснення органічних речовин у присутності мікроорганізмів та кисню повітря, яке вводить примусово.

Ліквідація мулу

Захоронення у ґрунті. До 30 % мулу застосовують як добриво у сільському господарстві. Таке використання мулу вигідне як з погляду зростання врожайності, покращання властивостей ґрунту, так і ліквідації мулу як відходу. Цей спосіб ліквідації може ускладнюватись присутністю патогенних мікроорганізмів і токсичних елементів.

Захоронення у морі. Широко застосовується у Великобританії. Інші європейські країни менше використовують цей метод. Захоронення мулу (й інших твердих відходів) у морі регулюється щорічними ліцензіями, в яких визначено місця скидання, а також кількість та якість скидуваного матеріалу.

Спалювання. Відіграє значну роль у технологіях ліквідації мулу, прийнятих у Франції, Данії.

Знезараження мулу

Пастеризація. Використовується для попередження розповсюдження *Salmonella* при внесенні мулу на поля. Здійснюється нагріванням до температури 70 оС та витримуванням протягом 30 хвилин.

Термообробка. Використовуються набагато жорсткіші умови, ніж при пастеризації – високий тиск та температура близько 200 оС. Мета термообробки – покращання властивостей мулу перед зневодненням та отримання стабільних та інертних твердих часточок.

Термофільне збродження. Дає можливість досягти значного рівня знезараження.

Компостування відходів

Компостування – це екзотермічний процес аеробного біологічного розкладу відходів в умовах підвищеної температури та вологості. У процесі біодеградації органічний субстрат піддається фізичним та хімічним перетворенням з утворенням стабільного гуміфікованого кінцевого продукту, який використовується у сільському господарстві як добриво та як засіб, що покращує структуру ґрунтів, підвищує їх стійкість до ерозії.

Відходи, що піддаються компостуванню: міське сміття, гній тваринницький ферм, відходи рослинництва, сирий активний мул тощо.

Організми, що беруть участь у компостуванні: бактерії, актиноміцети, гриби, водорості, найпростіші, вищі гриби, багатоніжки, кліщі, черви, мурашки тощо.

Процес компостування поділяють на чотири стадії:

- *мезофільна* – відходи мають температуру навколишнього середовища, рН слабокисле. Мікроорганізми, присутні у відходах, починають швидко розмножуватись, у процесі розщеплення ними органічних сполук виділяється енергія, температура піднімається до 40 оС, рН підкислюється;
- *термофільна* – при підвищенні температури понад 40 оС починають гинути мезофіли та переважати термофіли. Це піднімає температуру до 60 оС, процес розкладання речовин продовжують споротворні бактерії та актиноміцети, гриби стають неактивними. Гинуть термочутливі патогенні мікроорганізми, бур'яни та їх насіння. рН стає лужним;
- *охладження* – рН повільно падає, але лишається лужним. Швидкість тепловиділення стає дуже низькою, температура знижується до температури навколишнього середовища;
- *дозрівання* – втрати маси та тепловиділення малі, процес триває декілька місяців.

Параметри процесу компостування:

склад – сировина для компостування має містити максимум органічного матеріалу та мінімум неорганічних відходів;

дисперсність частинок – розмір частинок для механізованих установок з перемішуванням та примусовою аерацією – 12,5 мм, для нерухомих куп з природною аерацією – 50 мм;

поживні речовини – вміст елементів у відходах, як правило, є оптимальним для здійснення процесу компостування, лише співвідношення С/Н та зрідка рівень фосфору можуть потребувати коригування. С/Н має перебувати у межах 25/1;

вологість – має бути в межах 50 – 60;

аерація – оптимум – 10 – 18 % кисню;

перемішування – здійснюється для забезпечення киснем усіх зон компостної маси та диспергування крупних фрагментів сировини;

розміри купи – будь-яка довжина, висота 1,5 м та ширина 2,5 м для куп та компостних рядів з природною аерацією. У разі примусової аерації розміри купи мають перешкоджати перегріву.

Питання для самоконтролю:

1. Роль біотехнології в охороні навколишнього середовища.
2. Основні напрямки біотехнологічної переробки відходів.
3. Основні етапи очищення стічних вод.
4. Стадії аеробної переробки відходів.
5. Переробка відходів за допомогою активного мулу.
6. Очищення води.
7. Одержання добрив.
8. Одержання кормових добавок для тварин.
9. Загальна схема оброблення стоків у аеробних умовах.

10. Основні стадії біологічного очищення стічних вод в аеротенках.
11. Поняття “активний мул”.
12. Основні показники активного мулу.
13. Класифікація аеротенків.
14. Схеми потоків у різних типах аеротенків. Їх переваги й недоліки.
15. Системи аерації в аеротенках.
16. Класифікація біофільтрів. Загальна характеристика крапельних біофільтрів.
17. Конструкційні та експлуатаційні відмінності високонавантажених біофільтрів.
18. Класифікація високонавантажених біофільтрів.
19. Анаеробне очищення стічних вод. Переваги та недоліки.
20. Інтенсифікація процесу метанового бродіння.
21. Характеристика надлишкового мулу очисних станцій.
22. Основні способи перероблення, знезараження та ліквідації надлишкового мулу очисних станцій.
23. Суть процесу компостування. Організми, що беруть у цьому участь.
24. Основні стадії та параметри процесу компостування.

Тема 7 Біологічна переробка промислових відходів

- 1 Проблеми переробки промислових відходів.
- 2 Відходи молочної промисловості.
- 3 Відходи целюлозно-паперової промисловості й виробництва барвників.
- 4 Біодеградація нафтових забруднень, пестицидів і поверхово-активних речовин.

1. Проблеми переробки промислових відходів

Промислові відходи умовно можна розділити на дві категорії:

1. Відходи виробництв, заснованих на використанні біологічних процесів (виробництво харчових продуктів, напоїв, ферментація).
2. Відходи хімічної промисловості. У першому випадку відходи мають різний склад і звичайно переробляються шляхом біологічного окислювання, як це робилося традиційно у випадку побутового сміття. Однак такий спосіб економічно не вигідний, і в цей час широко обговорюється питання про можливість зменшення обсягу розведених стічних вод або їхнього безпосереднього використання - трансформації (для одержання біомаси або інших цінних продуктів).

У численних і різноманітних галузях хімічної промисловості утворюється велика кількість відходів, причому багато з них із часом піддаються руйнуванню і тривалий час присутні в середовищі. Тому часто перед звичайною біологічною переробкою відходів буває необхідно провести їх попередню хімічну або фізичну обробку. Використання специфічних мікроорганізмів для розщеплення ксенобіотиків при переробці відходів ще не знайшло широкого застосування в промисловості, однак такий підхід представляється ефективним.

Розглянемо методи біологічної переробки промислових відходів на прикладах молочної, паперової промисловості й виробництва барвників.

2. Відходи молочної промисловості

Сироватка - є побічним продуктом сироваріння. Її склад залежить від типу використовуваного молока й вироблюваного сиру. У висушеному або концентрованому вигляді сироватка застосовується як корм для тварин; однак її недоліком є те, що вона не збалансована з погляду вмісту поживних речовин: у сироватці занадто велика концентрація мінеральних речовин і лактози. Розроблено способи добування із сироватки білків шляхом ультрафільтрації, осадження або виділення за допомогою іонного обміну. З такого білку можна одержувати білкові гідролізати, використовуючи для цього ферментери. Після добування білків одержують більші обсяги фільтратів з високими концентраціями лактози (35-50 г/л), мінеральних речовин, вітамінів і молочної кислоти, і з'являється проблема подальшого їхнього використання. Якщо перетворити лактозу в молочну кислоту при участі молочнокислих

бактерій, то вийде джерело вуглецю, що може зброджуватися дріжджами. Після зброджування не обов'язково відокремлювати мікроорганізми від середовища, обсяг якого можна зменшити й одержати збагачену білком сироватку.

Із сироватки одержують не тільки білкові продукти, але й сировину для хімічної промисловості (наприклад, етанол). Шляхом хімічного гідролізу лактози з наступним видаленням глюкози з розчину за допомогою ферментації можна одержати галактозу. У результаті гідролізу лактози фільтрат стає більше солодким; на сучасних установках такий гідроліз здійснюється за допомогою галактозидази. Гідролізований фільтрат не тільки знаходить застосування в харчовій промисловості, але й може виявитися корисним при вирішенні проблем, пов'язаних з недовікою ферментів у деяких тварин і при несприйняттям лактози у людини. Із сироватки одержують й інші хімічні сполуки: лактозу, лактулозу й лактобіонову кислоту.

3. Відходи целюлозно-паперової промисловості й виробництва барвників

Волокнистий матеріал, що застосовується при виробництві паперу й інших продуктів, одержують як з деревних, так і із трав'янистих рослин після хімічного розщеплення лігніну. Однак цей процес супроводжується великою втратою деревини й утворенням величезної кількості відходів. У цей час застосовують два процеси одержання целюлозної маси: лужне й сульфатне варіння целюлози. Основний з них - лужне варіння, у результаті якої утвориться темна варильна рідина. Ці відходи містять важкоароматичні продукти, що переробляють, розщеплення лігніну й низькомолекулярні органічні кислоти (молочну, оцтову й мурашину). Варильну рідину не вдається переробляти біологічними способами, які могли б застосовуватися в промисловому масштабі; набагато економічніше упарювати цю рідину й спалювати її, одержуючи в такий спосіб енергію з відходів. Сульфатне варіння целюлози застосовується рідше; воно дає відходи наступного складу: лігносульфати з ароматичними елементами (60%), цукру (36%), оцтова кислота й метанол. Ці рідкі відходи - гарна сировина для ферментації завдяки високому змісту в них вуглеводів. Їхня ферментація в широких масштабах почата в 1909р. У цей час традиційним методом видалення цукрів й оцтової кислоти з таких відходів служить їхня ферментація при участі дріжджів.

Ті, що не піддаються переробці сполуки можна концентрувати й спалювати. Лігносульфонати застосовують як з'єднуючі речовини і допоміжні засоби при бурінні; при лужному окислюванні при підвищеному тиску їх можна перетворювати у ванілін. Головне в переробці відходів целюлозно-паперової промисловості - це зниження енерговитрат, а який хімічний принцип при цьому використовується - менш

істотно. Основна екологічна проблема, породжувана целюлозно-паперовою промисловістю - це очищення стічних вод, а також обробка конденсатів, що утворюються у випарниках і реакторах. Стічні води освітлюють шляхом нейтралізації й відстоювання, окислювання в одно- або двохстадійних установках з активним мулом, в аеруючих відстійниках шляхом сполучення біологічних і хімічних способів окислювання. Ці методи підходять для ефективного видалення сполук, придатних до біодеградації, а також токсичних похідних фенолу, однак вони виявляються дорогими й неефективними у випадку похідних лігніну, із важкістю придатних до переробки.

Відходи від виробництва барвників Текстильна промисловість і виробництво барвників відправляють у відходи величезну кількість барвників і пігментів. Вони надходять у навколишнє середовище зі стічними водами. З кількісної точки зору ці сполуки не ставляться до числа основних забруднювачів води. Крім того, ці відходи звичайно не розглядаються як токсичні або канцерогенні для риб або ссавців (за винятком бензидина й катіонних барвників).

Для очищення пофарбованих стічних вод застосовують хімічні методи. Видалення барвників і пігментів за допомогою мікробів досить обмежене. Усунення цих продуктів з відходів за допомогою активного мулу полягає в основному в адсорбції, а не в деградації. Ступінь їхнього розкладання мікроорганізмами визначається розчинністю, іонними властивостями, а також природою заступників й їхнім числом. Виявилось, що мікроорганізми здатні розкладати барвники, але тільки після адаптації до значно більш високих концентрацій, ніж ті, які звичайно виявляються в стічних водах.

4. Біодеградація нафтових забруднень, пестицидів і поверхнево-активних речовин

Розглянемо процеси біодеградації складних сумішей вуглеводів й їхніх похідних у середовищах, забруднених нафтою. Джерела таких забруднень можуть бути найрізноманітнішими: промивання корабельних бункерів для пального, аварії на танкерах у відкритому морі (основна причина нафтових забруднень навколишнього середовища), витоку в нафтосховищах і скидання відпрацьованих нафтопродуктів. Стічні води нафтової промисловості звичайно очищають біологічним способом після видалення більшої частини нафти фізичними способами або за допомогою коагулянтів. Токсичний вплив компонентів таких стічних вод на системи активного мулу можна звести до мінімуму шляхом поступової «акліматизації» очисної системи до підвищеної швидкості надходження стоків і наступної підтримки швидкості потоку і його складу на одному рівні. Самі найбільші витіки нафти в навколишнє середовище відбуваються в морі, де вона потім піддається різним фізичним

перетворенням, відомим як вивітрювання. У ході цих абіотичних процесів, що включають розчинення, випаровування і фотоокислювання, вона розкладається в залежності від якості нафти й від метеорологічних умов до -25-40%. На цій стадії руйнуються багато низькомолекулярних алканів. Ступінь мікробіологічної деградації вивітрених нафтових розливів визначається низкою факторів. Досить важливий склад нафти: відносний вміст насичених, ароматичних, утримуючих азот, сірку й кисень сполук у різних типах нафти по-різному. Певну стійкість нафті додають розгалужені алкани й серковмісні ароматичні сполуки. Крім того, швидкість росту бактерій, а отже, і швидкість біодеградації визначаються доступністю живильних речовин, зокрема азоту й фосфору. Виявилося, що додавання цих речовин збільшує швидкість біодеградації. Кількість різних організмів, здатних рости на компонентах нафти, залежить від ступеня забруднення вуглеводнями. Наприклад, найбільше їх знаходять поблизу великих портів або нафтових платформ, де середовище постійно забруднене нафтою. Повна деградація нафти найчастіше не відбувається навіть при участі багатих по видовому складу мікробних утворень. Основні фізичні фактори, що впливають на швидкість розкладання нафти - це температура, концентрація кисню, гідростатичний тиск і ступінь дисперсності нафти. Найбільш ефективно біодеградація здійснюється тоді, коли нафта емульгована у воді.

Особливу проблему представляють викиди або випадкові розливи нафти на поверхні ґрунту, оскільки вони можуть привести до забруднення ґрунтових вод і джерел питної води.

У ґрунті міститься дуже багато мікроорганізмів, здатних руйнувати вуглеводні. Однак навіть їхня активність не завжди достатня, якщо утворюються розчинні похідні або поверхнево-активні сполуки, що збільшують поширення залишкової нафти.

Біодеградація пестицидів Викиди відходів виробництва пестицидів сьогодні строго контролюються; технологія очищення стічних вод або їх детоксикації добре розроблена, хоча залишається складною. Вона включає спочатку екстракцію пестицидів розчинниками, а потім звичайну біологічну обробку. Для ліквідації непередбачуваних викидів, що відбуваються при витоках або промиванні й заміні контейнерів з пестицидами технологія поки відсутня. Пестициди попадають у навколишнє середовище також у результаті використання їх для обробки сільськогосподарських культур. Більшість пестицидів розщеплюються бактеріями й грибами. Перетворення вихідного пестициду в менш складні з'єднання нерідко здійснюється при участі мікроорганізмів. Були описані різні стадії й проміжні продукти процесів деградації ДДТ, що йде, наприклад, у ході сполученого метаболізму й приводить до повної мінералізації цього стійкого пестициду. Часто із середовища, що містить ксенобіотик, можна виділити колонії мікроорганізмів такого типу, у яких

вони харчуються не вуглицем, а фосфором, сіркою або азотом. Надзвичайно висока токсичність пестицидів найчастіше втрачається на першій же стадії їхньої модифікації. Це дозволяє розробити відносно нескладні мікробіологічні способи їх детоксикації. Наприклад, у результаті гідролізу може значно зменшитися токсичність пестициду або збільшитися ймовірність біодеградації. Для цього добре було б використати позаклітинні ферменти, здатні функціонувати під час відсутності коферментів або специфічних факторів і здійснювати детоксикацію різноманітних пестицидів.

Біодеградація поверхнево-активних речовин По чутливості до біодеградації синтетичні поверхнево-активні сполуки, застосовувані в побуті й у промисловості як мийні засоби, можна розділити на «тверді» й «м'які». Аніонні сполуки цієї групи, такі як алкілбензолсульфонати, наприкінці 50-х рр. залучили до себе увагу тим, що вони забруднюють навколишнє середовище: це проявляється в утворенні піни у водоймах.

Спочатку в продаж надходили «тверді» детергенти, стійкість яким надавали їх розгалужені алкільні бічні ланцюги. Щоб запобігти їх нагромадженню в природі, промисловість добровільно перейшла до виробництва піддаваних біодеградації, лінійних нерозгалужених алкіл бензолсульфонатів. Руйнування цих поверхнево-активних **сполук** починається з окислювання кінцевих метильних груп, після чого за рахунок окислювання йде розщеплення лінійних бічних ланцюгів. Кільцеві структури молекул зазвичай руйнуються тільки після повної біодеградації бічного ланцюга. Даний процес здійснюється тільки в аеробних умовах, оскільки для початкового окисного етапу потрібен кисень. Розгалужені молекули не завжди виявляються стійкими, хоча процес їх окислення є утруднений. Механізм руйнування розгалуженого ланцюга до кінця не встановлений. Зв'язок вуглець-сірка є дуже міцний, і це збільшує біологічну інертність молекули детергенту.

Реакції десульфування детально не вивчені, але швидше за все в них беруть участь гідроксилази або монооксигенази. Алкілсульфати усе ще використовуються як миючі засоби на фабриках-пральних та у косметичній промисловості; основну їхню масу становлять первинні алкілсульфати. Лінійні сульфати легко руйнуються, але цей процес сповільнюється через наявність розгалужених ланок. У первинній атаці цих молекул беруть участь сульфатази, що утворюють відповідні спирти, які піддаються потім подальшому метаболізму. Для цього процесу кисень не потрібний, і він може йти в анаеробних умовах. Деякі детергенти застосовуються в побуті; оскільки вони полегшують змочування й сприяють утворенню емульсій, їх з успіхом використовують при виробництві аерозолей для сільського господарства й у косметичній промисловості. Лінійні первинні алкогольетоксилати мінералізуються швидко й до кінця, але гомологи з більшими молекулярними масами

більш стійкі. Деградація здійснюється шляхом окислювання кінцевих метильних груп і наступного окислювання з утворенням низькомолекулярних алканоатетоксилатів, позбавлених поверхнево-активних властивостей.

Наявні в продажі детергенти рідко містять по вазі більше 30% поверхнево-активних сполук. До числа інших компонентів ставляться оптичні підбілювачі-окислювачі, допоміжні піноутворювачі, антикорозійні добавки й ферменти. Основну масу становить носій (наповнювач). Наповнювачі потрібні для:

1. Зменшення концентрації вільного кальцію й магнію з метою запобігання утворення неорганічних осадів; у протилежному випадку випадуть в осад солі лужноземельних металів й аніону детергенту;

2. Диспергування агрегатів ґрунтових часток і стабілізації ґрунтових суспензій.

Наповнювачі повинні мати гарну буферну ємність і не вступати в небажані реакції з іншими компонентами суміші.

5. Проблема розкладу складних субстратів у екологічній біотехнології

Існує проблема розкладу утворюваних у технологічних процесах складних речовин, які будучи основною масою відходів, створюють загрозу навколишньому середовищу. Завданням екологічної біотехнології є їх руйнування та перетворення на нешкідливі для довкілля або використання як вторинну матеріальну сировину для виробництва кормових і харчових продуктів.

Целюлоза (клітковина) – це полісахарид, що утворює головну масу клітинних стінок рослин. Нерозчинний у воді, лише набухає в ній. Фермент целюлоза гідролітично розщеплює клітковину з утворенням целобіози. Целюлаза міститься у пророслому зерні, деяких бактеріях та пліснявих грибах.

Анаеробне збродження клітковини у природних умовах здійснюють целюлозоруйнівні бактерії (*Clostridium omelianskii* тощо). Кінцеві продукти збродження клітковини – оцтова, мурашина, молочна кислоти, метан, водень, вуглекислий газ. Анаеробні целюлозні бактерії поширені у ґрунтах, мулах, водоймах, травному тракті та гної жуйних тварин. Особливо багато їх у метантенках, де зброджуються осад.

Найшвидше целюлоза розкладається в аеробних умовах під впливом бактерій (*Mycobacteriales* та *Cytophagales*), грибів (*Fusarium*, *Trichoderma*) та актиноміцетів.

Пектинові речовини – це високомолекулярні сполуки вуглеводної природи, що містяться у великій кількості в ягодах, фруктах, клубнях та стеблах рослин. Існують у вигляді нерозчинного протопектину, що являє

собою сполуки метоксильованої полігалактуронової кислоти з галактаном або арабаном клітинної стінки.

Пектинові речовини розщеплюються під дією ряду ферментів. Під впливом протопектинази протопектин розщеплюється на вільну метоксильовану полігалактуронову кислоту та арабан і галактан. Вільна метоксильована полігалактуронова кислота гідролізується під впливом пектази (пектинестерази), утворюючи метиловий спирт та полігалактуронову кислоту. Полігалактураназа (пектиназа) каталізує гідроліз глюкозидних зв'язків між залишками галактуронової кислоти.

Препарати, що містять пектиноруйнівні ферменти, отримують з пліснявих грибів і застосовують у харчовій промисловості для освітлення вин, соків та збільшення їх виходу.

Пектинові речовини можуть також розкладатись анаеробними бактеріями *Clostridium pectinovorum*; грибами роду *Botridis*, аспергіловими грибами *Asp. niger*, *Asp. Awamogu* в аеробних умовах.

Стоки, що містять **нафтопродукти**, утворюються у процесі виробництва кормового білка на вуглеводнях нафти, на нафтопереробних заводах, у морських портах тощо.

На доступність сполук дії мікроорганізмів впливають: кількість атомів вуглецю, що утворюють ланцюг алканів, та розгалуженість вуглеводнів. Розклад вуглеводнів можливий лише у присутності молекулярного кисню.

До використання розгалужених алканів більш придатні *Mycobacterium* та *Nocardia*. На ароматичних вуглеводнях добре розвиваються *Bacterium benzolicum*, *B. toluolicum*. Вуглеводні швидше руйнуються змішаними культурами мікроорганізмів. Досить поширено отримання кормового білка вирощуванням на нафтопродуктах дріжджів роду *Candida*.

Вченими НУХТ отримано бактеріальний препарат “Лестан”, який використовують для очищення ґрунту та вод від нафтопродуктів.

Кератини належать до групи протеїноїдів – фібрилярних білків, що виконують в організмі механічні функції і мають підвищену стійкість до дії води та хімічних реагентів. Кератини входять до складу рогів, копит, шерсті, волосся, пір'я, пуху.

Висока стійкість кератину до хімічних реагентів, ферментів зумовлена великою кількістю поперечних дисульфідних зв'язків (– S – S –) між пептидними ланцюгами. Гідроліз, відновлення чи окиснення, механічна обробка кератину приводять до утворення розчинного продукту, що розщеплюється протеолітичними ферментами.

Питання для контролю знань:

1. Категорії промислових відходів.
2. Проблеми переробки промислових відходів.
3. Технологія переробки відходів молочної промисловості.

4. Продукти, одержувані з молочної сироватки.
5. Технологія переробки відходів целюлозно-паперової промисловості.
6. Переробка відходів від виробництва барвників.
7. Біодеградація нафтових забруднень.
8. Біодеградація пестицидів.
9. Біодеградація поверхнево-активних речовин.
10. Розклад целюлози в аеробних та анаеробних умовах. Целюлозоруйні організми.
11. Будова та особливості розкладу пектинових речовин.
12. Використання біотехнологій для захисту довкілля від забруднення нафтопродуктами.

Тема 8 Хімія і біотехнологія

- 1 Бродильне виробництво розчинників.
- 2 Виробництво органічних кислот.
- 3 Виробництво амінокислот.
- 4 Одержання ферментів.

Коріння сучасної прикладної мікробіології й біотехнології йде у хімічну промисловість початку ХХ століття: саме тоді були розроблені основи промислового виробництва ряду хімічних речовин (наприклад, ацетону, етилового спирту, бутанолу) з вуглеводів рослин. На зміну цієї важливої галузі промисловості прийшла нафтохімічна промисловість, що швидко розвивається.

Однак зараз запаси викопної сировини стали предметом конкуренції, тому що вони потрібні для виробництва хімічних речовин, енергії й навіть харчових продуктів та ще й у час підвищенням цін на нафту й вугілля.

У таких умовах застосування процесів нового типу при виробництві хімічних речовин з поновлюваної біомаси стає усе більше перспективним.

Багатообіцяючою областю подальшого розвитку представляється виробництво цінних речовин з рослин шляхом масового культивування клітин рослин.

1. Бродильне виробництво розчинників

До числа важливих бродильних виробництв ставиться одержання ацетону й бутанолу. Уперше в промисловому масштабі вони були здійснені в Манчестері Вейсманом у ході першої світової війни. Ацетон був необхідний як метальна вибухова речовина у важкій артилерії. До початку воєнних дій його експортували з Німеччини. Ацетон низької якості одержували шляхом сухої перегонки деревини. Бродильний процес (ферментація) був заснований на переробці крохмалю, концентрація якого становила до 3,8%, анаеробними спороутворюючими бактеріями *Clostridium acetobutylicum*. Перетворенню піддавалося до 30% субстрату, у результаті чого виходила суміш розчинників (60% бутанолу, 30% ацетону, 5-10% етанолу, ізопропанолу та ін.). Інша частина субстрату перетворювалася у водень і вуглекислий газ.

Оскільки утворювалися великі обсяги газів, при великомасштабному виробництві перемішування не було потрібним, а головна складність полягала в гасінні піни. Залежно від штамів відношення ацетон-спирт трохи варіювало. Багато мікробів, що руйнують крохмаль і здатні утворювати розчинники, можуть також зброджувати мелясу при вмісті цукру в середовищі до 6%. Розчинники відокремлюють від середовища відгоном. Наприкінці першої світової війни головну роль стало грати виробництво бутанолу: він знайшов застосування при одержанні широкого кола речовин, включаючи мочевиноформальдегідні пластмаси, пластифікатори та інше. Побічний продукт – водень, став використатися у

виробництві синтетичного метанолу й для гідрогенізації харчових масел; вуглекислий газ або скраплювали, або перетворювали в сухий лід. Тверді речовини відходів містили велику кількість рибофлавіну (вітаміну В₂), і їх можна було використати як багату білком добавку до кормів.

Після другої світової війни бродильне виробництво розчинників сильно скоротилося, тому що зменшилася відносна вартість нафтохімічних продуктів у порівнянні з полімерами цукрів. Виробництво н-бутанолу шляхом ферментації продобжувалось тільки в ПАР. Однак у цей час одержання бутанолу шляхом ферментації стає усе більше вигідним. Головний недолік існуючого методу – низька стійкість штамів мікроорганізмів до кінцевих продуктів і відносно низький вихід розчинників.

2. Виробництво органічних кислот

Серед органічних кислот найважливіша – оцтова. На ринок США її щорічно надходить близько 1,4 млн. т. загальною вартістю до 500 млн. дол. У минулому основну частину оцтової кислоти одержували шляхом мікробіологічного окислювання етанолу, але сьогодні, за винятком виробництва оцту, цей процес по економічних міркуваннях не застосовується. Технічна оцтова кислота використовується при виробництві багатьох хімічних речовин, включаючи каучук, пластмаси, волокна й інсектициди. При звичайному способі виробництва мікробіологічна конверсія етанолу в оцтову кислоту при участі штамів *Acetobakter* й *Cluconobakter* іде в аеробних умовах і тому, не є процесом шумування.

Оцет по праву вважається найважливішим продуктом мікробіологічної промисловості. Наприкінці XIX в. почалося промислове виробництво молочної кислоти при участі молочнокислих бактерій *Lactobacillus delbrueckii*, *L. leichmannii*, *L. bulgaricus*. Це був один з перших процесів, де застосовувалася часткова стерилізація середовища нагріванням. Цей мікроаерофільний процес здійснюється при високій температурі (45-50 °C). У ньому використовують утримуючу крохмаль сировину, що попередньо обробляють ферментами або піддають кислотному гідролізу.

Lactobacillus bulgaricus активно зброджує лактозу і може тому використовувати молочну сироватку як субстрат. В інших випадках конверсії піддається сахароза. Молочну кислоту використовують як добавку до безалкогольних напоїв, есенціям, фруктовим сокам, джемам і сиропам, для декальцифікації шкіри у дубильній промисловості, а також при виробництві пластмас. Солі молочної кислоти використовуються в медицині.

Виробництво лимонної кислоти методом ферментації також належить до числа давніх біотехнологічних процесів: воно було налагоджено в 1893р. Його розвиток ішов у тісному зв'язку з розробкою багатьох

фундаментальних аспектів мікробіології. Спочатку основні проблеми були пов'язані з мікробним забрудненням. У пошуках їхнього рішення було знайдено, що процес можна вести при дуже низьких значеннях рН, і це майже не позначається на утворенні кислоти грибами. У промисловому виробництві лимонної кислоти в основному використовується *Aspergillus niger*, але застосовується також й *A. wentii*.

Лимонну кислоту широко використовують у харчовій, фармацевтичній і косметичній промисловості. Ефіри лимонної кислоти застосовуються у виробництві пластмас. Оскільки лимонна кислота зв'язує метали, її використовують для їхнього очищення.

3. Виробництво амінокислот

Всі амінокислоти, з яких складаються білки, є L- амінокислотами. Вони знаходять застосування як харчові добавки, приправи, підсилювачі смаку, як сировина в парфумерній і фармацевтичній промисловості і при виробництві інших речовин.

Їх можна одержувати як із природних продуктів (головним чином при гідролізі білків рослин), так і шляхом хімічного, мікробіологічного або ферментативного синтезу. Виробництво таких амінокислот, як L-глутамат, L-валін, DL-аланін, L-глутамін й L-пролін, при участі диких штамів бактерій засновано або на використанні властивим цим бактеріям особливостей метаболізму, або на стимуляції утворенні амінокислот у відповідь на зміну умов зовнішнього середовища.

Утворювати амінокислоти здатні бактерії багатьох штамів (*Corynebacterium*, *Brevibacterium*, *Bacillus*, *Aerobacter*, *Microbacterium*, *Escherichia*), причому вони настільки продуктивні, що виробництво стає рентабельним. Так, види *Corynebacterium* або *Brevibacterium*, вирощувані на вуглеводній сировині, на етанолі при наявності достатньої кількості біотину в середовищі здатні синтезувати до 30 г/л глутамату.

Застосування амінокислот Амінокислоти знаходять застосування в багатьох сферах:

1. Їх використовують як харчові добавки. Лізином, триптофаном і треоніном збагачують рослинні білки, а метіонін включають у блюда із сої.

2. При виробництві харчових продуктів амінокислоти знаходять застосування в сфері підсилювачів смаку й добавок. Завдяки вираженому м'ясному смаку широко використовується моносодієва сіль глутамінової кислоти. Гліцин додають як підсолоджувач, бактеріостатична речовина й антиоксидант.

3. Амінокислоти застосовуються в медицині, а деякі їхні аналоги використовуються для лікування психічних захворювань.

4. У хімічній і фармацевтичній промисловості амінокислоти широко використовуються як сировина у виробництві детергентів,

поліамінокислот (з них роблять синтетичні волокна й плівки), поліуретану й хімікатів для сільського господарства.

4. Одержання ферментів

Застосування ферментів у хімічній технології зазвичай буває обумовлене їхньою високою вибірковістю й стереоспецифічністю. Протеїнази давно застосовуються в харчовій промисловості. Раніше ферменти для цих цілей виділяли із тварин і рослин, сьогодні їх частково заміщають протеази мікробів.

Першим ферментом, що знайшов застосування в промисловості, була α -амілаза з *Aspergillus oryzae*, виробництво якої почалося в 1890р. Ці препарати містили значну домішку протеази, їх рекомендували використати як засіб, що сприяє травленню.

Необхідно відзначити, що виробництво й надходження на ринок такого роду продуктів було досить обмеженим аж до початку 60-х років, коли їх стали використовувати в складі детергентів. Однак, про таку можливість було відомо за п'ятдесят років до цього; засоби для замочування білизни, що містять соду й панкреатичні ферменти, продавалися ще в 1913р. Наприкінці 60-х років приблизно 50% всіх детергентів, що випускалися в Європі й США, уже містили протеази. Постійно ведеться робота зі збільшення активності ферментів і стабільності їх у миючих розчинах. Для виробництва протеаз у промисловому масштабі потрібні штами мікроорганізмів, що синтезують позаклітинні протеази з високим виходом. Ці ферменти підрозділяють сьогодні на три групи: серинові, кислі й металопротеази.

Серед серинових протеаз на першому місці стоїть субтилізин Carlsberg. При участі *Bacillus licheniformis* щорічно виробляється близько 500 тонн очищеного ферменту. Серинові протеази гідролізують білки до амінокислот. У пральні порошки звичайно додають 0,5% препарату, що містить 3% активного ферменту. Хоча вміст ферменту в них і незначний, при пранні він концентрується на плямах білкової природи через спорідненість до субстрату.

До складу металопротеаз входить атом металу, зазвичай цинку, без якого фермент не активний. У промисловості металопротеази одержують за допомогою *Bacillus amyloliquefaciens*. Специфічність дії цих ферментів вище, ніж у серинових протеаз. Вони застосовуються в пивоварстві, при гідролізі білків ячменю, тому що серинові протеази інгібуються речовинами солоду. Видалення з їхньою допомогою білків дозволяє уникнути помутніння пива при охолодженні.

Кислі протеази синтезуються грибами. По властивостях вони схожі на травні ферменти тварин пепсин і ренін. Застосовують їх для гідролізу соєвого білка при виробництві соєвого соусу, у хлібопекарській промисловості (з їхньою допомогою видозмінюють властивості

клейковини борошна так, щоб одержати м'яке, пластичне тісто, з якого роблять бісквіти). Кислі протеази застосовують також як засоби, що сприяють травленню або ж запобігають помутнінню пива при охолодженні. Більшість протеаз викликає згортання молока, але сир виходить несмачним, через глибокий гідроліз казеїну. Протеази знаходять застосування й у шкіряній промисловості, при видаленні вовни й зм'якшенні шкір. Така обробка робить шкіри м'якими й еластичними.

«Корольовими» ферментами у промисловості можна вважати глюкозоізомеразу, що каталізується перетворення глюкози у фруктозу. Поява таких препаратів послужила поштовхом для розвитку великого виробництва фруктового сиропу.

При високій концентрації субстрату і нейтральному рН несолодка глюкоза з виходом 42-47% ізомеризується ферментом у більш солодку фруктозу. Такі фруктозні сиропи сьогодні широко споживаються харчовою промисловістю. Запатентовано безліч способів іммобілізації й використання як самої ізомеразу, так і утримуючих її клітин. Процес іде при 60-65 °С при рН 7,0-8,5 у присутності іонів магнію. При виробництві насиченого фруктозного сиропу з кукурудзи як субстрату використовується або глюкоза, або продукт комплексної ферментативної обробки, що полягає в зрідженні й оцукруванні крохмалю.

Використання ферментів у виробництві крохмалю дозволяє контролювати глибину його гідролізу й одержувати продукцію з бажаними властивостями: в'язкістю, солодкістю, осмотичним тиском і стійкістю до кристалізації. Гідроліз каталізується ферментами трьох різновидів: ендоамілазами, екзоамілазами і 1,6-глюкозидазами.

Ендоамілази - це амілази, що розщеплюють 1,4- глюкозидні зв'язки в амілазі й амілопектині з утворенням олигосахаридов з різною довжиною ланцюга.

При оцукруванні використовуються термостабільні α -амілази, особливо мальтогенні ферменти із грибів. Найкраще вони працюють при 55 °С і концентрації субстрату 30-40%. Процес звичайно триває більше 48 годин. Одержувані із крохмалю сиропи містять багато мальтози (40-50%); вони застосовуються при виробництві карамелі й заморожених десертних блюд. Для одержання сиропів з дуже високим змістом мальтози (80%) мальтогенні екзоамілази використовуються разом з 1,6- глюкозидазами.

Екзоамілази розщеплюють 1,4-глюкозидні зв'язки, а глюкогенні екзоамілази гідролізують 1,6-глюкозидні зв'язки в розгалужених молекулах олігосахаридів. Ці ферменти можуть також каталізувати полімеризацію глюкози з утворенням мальтози й ізомальтози.

Глюкоамилази застосовуються в основному у виробництві концентрованого сиропу, з якого виробляють кристалічну глюкозу або концентровані фруктозні сиропи.

Технології на основі культури клітин і тканин

Рослини здавна є постачальниками хімічних сполук для самих різних галузей хімічної промисловості. Це не тільки така сировина як цукор, але й цілий набір складних вторинних метаболітів, наприклад каучук, кокаїн, барвники, смакові добавки й пряності.

Із проблемами біотехнології рослинних клітин можна познайомитися на прикладі організації промислового виробництва першої речовини, отриманої з культури тканин рослини. Відомо, що коріння рослини *Lithospermum erythrorhizon* містять шиконін і його похідні. Дана речовина використовується в Японії для лікарських цілей, тому що має антибактеріальну й протизапальну активність. Шиконін є похідним нафтохоніна, має яскраво-червоні кольори й використовується також як барвник. Вирощувати такі рослини в промисловому масштабі в Японії неможливо, тому їх доводилося ввозити з Кореї й Китаю. Вартість чистої природної речовини становила при цьому 4500 дол. за 1 кг.

Було досить вигідно налагодити його промислове виробництво на основі культури тканин рослин. Ученим вдалося виділити лінії, що накопичують до 15% шиконіну на суху масу клітин. Наступна оптимізація середовища дозволила досягти тринадцятикратного збільшення продуктивності. Був розроблений двоступінчастий процес культивування, у якому на першій стадії створювалися оптимальні умови для нарощування біомаси, а на другому – для утворення вторинних продуктів. Вихід продукту з ферментера обсягом 750 л. становить 5 кг., а вартість його набагато нижче, ніж при одержанні з коріння рослин.

Методи культивування тканин рослин застосовувалися й для поліпшення сортів сільськогосподарських культур: підвищення їхньої стійкості до хвороб і несприятливих умов середовища, збільшення змісту сахарози й крохмалю, підвищення врожайності.

Таким чином, перспективи розвитку біотехнології на основі рослинних клітин представляються досить багатообіцяючими.

Буде налагоджене виробництво нових лікарських препаратів, підсолоджувачів, засобів захисту рослин, речовин для косметичної й парфумерної промисловості. Джерелом сировини для різних галузей хімічної промисловості в доступному для огляду майбутньому будуть нафта і її похідні. Одержувані з них з малими витратами продукти навряд чи буде потрібно робити за допомогою якоїсь іншої технології.

Факторами, які можуть вплинути на впровадження біотехнології в цю область, є виснаження джерел сировини, підвищення вартості енергії й постійна необхідність ефективної переробки відходів.

Зменшення доступних джерел пального приведе до того, що все більш широко будуть використовуватися ресурси біомаси. Бродильні виробництва й технології на основі ферментів будуть і далі доповнювати спектр звичайних хімічних технологій. Що стосується застосування

біотехнології у великомасштабних виробництвах хімічних речовин або полімерів, то перспективи тут досить обмежені. З економічної точки зору найбільш доцільним представляється використання специфічних переваг біотехнологічних процесів у малооб'ємних виробництвах рідких хімічних речовин з високою прибавочною вартістю.

Питання для самоконтролю:

1. Бродильне виробництво ацетону й бутанолу.
2. Одержання оцтової кислоти.
3. Виробництво лимонної кислоти.
4. Виробництво молочної кислоти.
5. Виробництво амінокислот.
6. Одержання протеїназ.
7. Технології на основі культури рослинних клітин і тканин (одержання шиконіна).
8. Фактори, що впливають на впровадження біотехнології в хімічну промисловість.