**Вопросы к вступительным экзаменам**

**Направление подготовки 19.04.01. – Биотехнология**

**(магистр биотехнологии)**

1. Макросистема живой природы. Надцарства прокариотов и эукариотов, их деление на царства.
2. Особенности строения прокариотических и эукариотических клеток. Химический состав клеток.
3. Структура, свойства и состав биологических мембран у прокариотных и эукариотных клеток.
4. Механизмы транспорта веществ в клетке. Активный и пассивный транспорт.
5. Механизмы возникновения потенциалов покоя и действия. Структура и функционирование ионных каналов.
6. Термодинамика биологических процессов.
7. Молекулярные основы наследственности.
8. Спонтанные и индуцированные мутации.
9. Репарация ДНК: типы повреждений ДНК и пути их устранения (прямая реактивация, эксцизионная и индуцируемая репарация).
10. Оперонная система организации бактериальных генов. Модель Жакоба-Моно.
11. Определение нуклеотидной последовательности ДНК (метод Сенгера и метод Максама-Гилберта).
12. Аминокислоты. Общая характеристика, классификация. Заменимые и незаменимые аминокислоты. Физико-химические свойства аминокислот.
13. Строение белковой молекулы (первичная, вторичная, третичная, четвертичная структуры). Основные функции белков.
14. Стадии биосинтеза белка. Роль т-РНК и м-РНК в биосинтезе белка.
15. Особенности биосинтеза белка у про- и эукариот. Ингибиторы биосинтеза.
16. Классификация и характеристика основных групп белков.
17. Строение ферментов. Апофермент, кофермент, активный центр ферментов.
18. Основные свойства и механизм действия ферментов. Регуляция активности ферментов и их биосинтез.
19. Строение молекулы ДНК. Функции ДНК. Механизм репликации ДНК.
20. Классификация и характеристика основных групп углеводов.
21. Классификация и физико-химические свойства основных групп липидов. Роль липидов и продуктов их распада в передаче сигналов (информации) внутрь клетки.
22. Энергетический обмен.
23. Предмет и основные этапы развития биотехнологии.
24. Технология рекомбинантных ДНК и этапы молекулярного клонирования генов.
25. Генетическая и клеточная инженерия человека.
26. Использование методов генетической инженерии в растениеводстве.
27. Использование методов генетической инженерии в животноводстве.
28. Клеточная инженерия растений.
29. Клеточная инженерия животных.
30. Получение гормонов, интерферонов и интерлейкинов методами генетической и клеточной инженерии.
31. Иммунобиотехнология: получение и применение моноклональных антител.
32. Иммунобиотехнология: получение «безопасных» вакцин.
33. Пропионово-кислое брожение и его применение в биотехнолгии.
34. Ацетоно-бутиловое брожение и его применение в биотехнологии.
35. Получение органических кислот из углеводов (на примере лимонной кислоты).
36. Микробиологическое получение полисахаридов.
37. Микробиологическое получение белка.
38. Производство биологических удобрений.
39. Производство биопрепаратов для защиты растений.
40. Производство аминокислот при помощи микроорганизмов.
41. Биотехнологическая энергетика. Применение микроорганизмов для получения биотоплива.
42. Биогеотехнология: основные технологии и перспективы применения.
43. Экологическая биотехнология.
44. Источники ферментов. Методы выделения и очистки ферментов.
45. Кинетика ферментативных реакций. Фермент-субстратный комплекс. Уравнение Михаэлиса-Ментен. Константа Михаэлиса и ее физический смысл.
46. Методы иммобилизации биокатализаторов.
47. Кинетика катализа иммобилизованными ферментами.
48. Физико-химические свойства гидролаз: амилазы, β-галактозидаза, протеолитические ферменты.
49. Применение иммобилизованных биокатализаторов в микроанализе и в медицине. Ферментные датчики и электроды.
50. Общая характеристика микроорганизмов.
51. Строение бактериальной клетки. Структура клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий.
52. Понятия о покоящихся формах микроорганизмов. Споры бактерий, их особенности. Биологические и биотехнологические аспекты устойчивости спор.
53. Актиномицеты, их строение, развитие и применение в биотехнологии.
54. Грибы, их общая характеристика и использование в биотехнологии.
55. Питательные среды для культивирования микроорганизмов.
56. Рост микроорганизмов и его количественные характеристики.
57. Основные способы хранения микроорганизмов. Хранение посевного материала в условиях промышленного производства.
58. Чистые культуры микроорганизмов и методы их получения.
59. Периодическое культивирование микроорганизмов. Статические и динамические процессы.
60. Непрерывное культивирование микроорганизмов.
61. Молочнокислые бактерии и их использование в биотехнологии.
62. Перспективы применения микроорганизмов в строительной биотехнологии.
63. Основные представления о биологически активных соединениях, их биологическое значение и практическое применение.
64. Витамины, их классификация, биологическое значение и применение.
65. Гормоны, их классификация и принцип действия.
66. Промышленное получение витаминных препаратов.
67. Понятие об антибиотиках и их классификация. Применение антибиотиков в медицине и народном хозяйстве.
68. Антибиотики, образуемые грибами.
69. Антибиотики, образуемые актиномицетами.
70. Основные этапы промышленного получения антибиотиков.
71. Получение заменителей плазмы крови на основе декстрана.
72. Крахмалопаточное производство: характеристика основного сырья и готовой продукции, технологическая схема производства.
73. Технологическая схема хлебопекарного производства. Характеристика основного и дополнительного сырья, используемого в хлебопечении.
74. Технологическая схема свеклосахарного производства.
75. Технология кондитерских изделий.
76. Технология консервирования плодов и овощей.
77. Физико-химические методы очистки сточных вод.
78. Аэробная биологическая очистка сточных вод.
79. Биологическая анаэробная очистка сточных вод.
80. Реакторы для биологической очистки сточных вод.
81. Теплообменные процессы. Основные законы теплопроводности. Уравнение основного закона теплоотдачи.
82. Классификация теплообменников и аппаратуры, используемой в процессах нагревания и охлаждения в биотехнологии.
83. Массообменные процессы. Основные законы массоотдачи.
84. Контрольно-измерительные приборы, используемые в биотехнологических производствах. Их устройство и принцип действия.
85. Оборудование для культивирования микроорганизмов поверхностным и глубинным способами.
86. Установки для приготовления и стерилизации питательных сред в биотехнологических производствах.
87. Оборудование, применяемое для выделения и очистки продуктов биотехнологических производств.
88. Характеристика дрожжей, используемых в пивоварении и спиртовом производстве.
89. Культивирование засевных и производственных дрожжей в бродильных производствах.
90. Производство ячменного солода.
91. Приготовление пивного сусла.
92. Главное брожение пивного сусла.
93. Дображивание и обработка молодого пива.
94. Подготовка крахмалосодержащего сырья к развариванию. Осахаривание разваренной массы.
95. Особенности сбраживания сусла в спиртовом производстве.
96. Выделение спирта из зрелой бражки и его очистка.
97. Получение спирта из мелассы.
98. Первичная переработка скота.
99. Технология обработки субпродуктов и эндокринно-ферментного сырья.
100. Созревание как естественная ферментация мяса. Способы ускорения созревания мяса.
101. Производство колбасных изделий и их классификация.
102. Характеристика водного компонента мяса и факторы, влияющие на его влагосвязывающую способность.
103. Классификация, подготовка и применение колбасных оболочек.
104. Технология обработки рыбы и производство рыбопродуктов.
105. Состав и свойства молока как сырья для молочной промышленности.
106. Характеристика видового состава микрофлоры молока.
107. Биотехнология бактериальных заквасок и препаратов.
108. Биотехнология жидких кисломолочных продуктов.
109. Биотехнология белковых кисломолочных продуктов
110. Биотехнология молочных продуктов с повышенным содержанием жира.
111. Биотехнология масла.
112. Безотходная технология: общие понятия и определения.
113. Безотходная технология молочной промышленности.
114. Безотходная технология сахарной промышленности.
115. Безотходная технология спиртовой промышленности.
116. Основы санитарно-гигиенического и микробиологического контроля в биотехнологической промышленности.
117. Санитарно-микробиологический контроль в молочной промышленности.
118. Санитарно-микробиологический контроль в хлебопекарной промышленности.
119. Санитарно-микробиологический контроль в бродильной промышленности (на примере производства пива).
120. Санитарно-микробиологический контроль в мясоперерабатывающей отрасли.

Вопросы к вступительным экзаменам

Направление подготовки 19.04.01. – Биотехнология

(магистр биотехнологии)

1. Макросистема живой природы. Надцарства прокариотов и эукариотов, их деление на царства.

Прокариоты: Настоящее ядро с ядерной мембраной отсутствует, и генетический материал сосредоточен в т.н. нуклеоиде. ДНК обычно образует одну замкнутую в кольцо нить, которая не связана с белками и с РНК и не является ещё настоящей хромосомой, устроенной гораздо сложнее. Типичного полового процесса нет, но обмен генетическим материалом иногда осуществляется во время других (т.н. парасексуальных) процессов, не сопровождающихся слиянием нуклеоидов. Лишены центриолей, микротрубочек и митотического веретена (деление клетки амитотическое, см. Митоз), пластид и митохондрий. Опорным каркасом клеточной стенки служит гликопептид муреин. Жгутиков нет или они относительно простые и имеют принципиально иное строение, чем у растений и животных. Многие представители могут фиксировать молекулярный азот. Облигатные и факультативные анаэробы и аэробы. Питание путём всасывания питательных веществ через клеточную стенку, т.е. абсорбтивное (сапротрофное или паразитное) или автотрофное. Сюда входит одно царство - Дробянки (Mychotalia, или Mychota, от слова «михи», обозначающего комочки хроматина, неспособного к митозу). Многие авторы употребляют мало удачное название Monera, предложенное ещё Э. Геккелем для якобы безъядерного «рода» Protamoeba, который оказался всего лишь безъядерным фрагментом обыкновенной амёбы. Включает два подцарства: Бактерии и Цианеи.

Подцарство бактерий (Bacteriobionta). Питание гетеротрофное или автотрофное (хемотрофное или реже фототрофное). Хлорофилл, когда он присутствует, представлен бактериохлорофиллами. Фикоцианин и фикоэритрин отсутствуют. При фотосинтезе не происходит выделения молекулярного кислорода. Часто имеются простые жгутики.

Подцарство цианеи (Cyanobionta). Питание автотрофное (фотосинтетическое). Хлорофилл представлен хлорофиллом а. В качестве дополнительных фотосинтезирующих пигментов присутствуют фикоцианин и фикоэритрин. При фотосинтезе происходит выделение молекулярного кислорода. Жгутики отсутствуют. Сюда входят цианеи (синезелёные водоросли), составляющие один отдел Cyanomychota (Cyanophyta).

Эукариоты: Организмы с настоящим ядром, окруженным ядерной мембраной. Генетический материал ядра заключён в хромосомах, в которых (за исключением пиррофитовых водорослей) ДНК связана с белками и с РНК. Есть типичный половой процесс (с чередующимся слиянием ядер и редукционным делением, происходящим в процессе мейоза), иногда апомиксис (размножение без оплодотворения, но при наличии половых органов, например партеногенез). У многих представителей имеются центриоли; присутствуют более или менее типичное митотическое веретено или аналог веретена, образуемый микротрубочками (деление клетки митотическое), пластиды, митохондрии и хорошо развитая эндоплазматическая мембранная система. Жгутики или реснички, когда они имеются, обычно сложного строения: состоят из 9 парных (или тройных) трубчатых фибрилл, расположенных по периферии чехла, и 2 одиночных центральных, также трубчатых фибрилл. Не могут фиксировать атмосферный азот. Аэробы или (редко) вторичные анаэробы. Питание аосорбтивное (путём всасывания через клеточную стенку), автотрофное или т.н. голозойное, когда пища заглатывается и переваривается внутри организма. Имеются пищевые вакуоли. Включает три царства: Животные, Грибы и Растения.

Царство животных (Animalia). Первично гетеротрофные организмы. Плотная клеточная стенка обычно отсутствует. Питание преимущественно голозойное, с заглатыванием пищи, но у некоторых представителей оно абсорбтивное. Запасные углеводы в форме гликогена. Размножение и расселение без помощи спор (за исключением некоторых простейших из класса Sporozoa). Активно подвижные организмы иногда прикрепленные (вторичные формы).  
Подцарство простейших (Protozoobionta, или Protozoa). Животные, организмы которых состоят из одной клетки или из колоний одинаковых клеток. Обычно принимается один тип — простейшие (Protozoa).  
Подцарство многоклеточных животных (Metazoobionta, или Metazoa). Животные, состоящие из многих неодинаковых (специализированных) клеток.  
Выделяют около 16 типов, число которых иногда доводят до 20—23. Наиболее общепринятыми являются типы: губки, кишечнополостные, гребневики, плоские черви, первичнополостные черви, кольчатые черви членистоногие, моллюски, иглокожие, и хордовые (Chordata).  
Царство грибов (Mycetalia, Fungi, или Mycota). Гетеротрофные (вероятно, первично гетеротрофные) организмы. Клетки с плотной клеточной стенкой (хитиновая или иногда целлюлозная), реже в виде мембраны, как у обмицетов. Питание абсорбтивное, редко голозойное. Запасные углеводы главным образом в форме гликогена. Жгутиконосные клетки имеются или чаще полностью отсутствуют. Размножение гаплоидными спорами, при прорастании которых происходит мейоз. Обычно прикрепленные организмы. Подразделяются на 2 систематические группы, которые различаются между собой столь фундаментальными признаками, что безусловно заслуживают таксономического ранга полцарства. Общее происхождение этих подцарств не доказано и у многих микологов вызывает сомнение  
Царство растений (Vegetabilia, или Plantae). Автотрофные (фототрофные) организмы, иногда вторичные гетеротрофы (сапрофиты или паразиты). Клетки с плотной стенкой, состоящей обычно из целлюлозы, редко из хитина (у некоторых водорослей). Запасные углеводы откладываются в виде крахмала, реже (у красных водорослей) в виде особого, близкого к гликогену крахмала багрянок — родамилона. Обычно подразделяются на 2 полцарства.  
Подцарство низших растений (Thallobionta). Гаметангии (половые органы) и спорангии (органы спороношения) одноклеточные или отсутствуют. Зигота обычно не превращается в типичный многоклеточный зародыш. Растения без эпидермы, устьиц и без стелы (проводящего цилиндра). В это подцарство входят только водоросли (без синезелёных).  
Подцарство высших растений (Embryobionta, или Telomobionta). Гаметангии и спорангии многоклеточные или гаметангии редуцированы. Зигота превращается в типичный многоклеточный зародыш. Растения с эпидермой, устьицами и большая часть со стелой. Включает отделы: риниевидные, или псилофиты (Rhyniophyta), моховидные (Вгуорhyta), плауновидные (Lycopodiophyta), псилотовидные (Psilotophyta), хвощевидные (Equisetophyta), папоротниковидные (Polypodiophyta), голосеменные (Pinophyta, или  
Gymnospermae) и цветковые, или покрытосеменные (Magnoliophyta, или Angiospermae).

2. Особенности строения прокариотических и эукариотических клеток. Химический состав клеток.

Клетка – основная структурная единица живого. Клеточная теория строения в 1839 Т. Шванном и М. Шлейденом.

*Прокариотическая клетка*.(бактерии, цианобактерии, археи). Нет оформленного клеточного ядра и внутренних мембранных органоидов. Двухцепочечная молекула ДНК (нуклеоид) не образует комплекса с белками-гистонами (хроматина). Основное содержимое клетки — вязкая зернистая цитоплазма. 70 S рибосомы.

*Эукариотическая клетка.* Оформленное клеточное ядро. Генет. материал - несколько линейных 2цепочных молекулах ДНК, образующих комплекс с белками-гистонами, (хроматином). В клетках эукариот имеется система внутренних мембран, образующих, другие органоиды (ЭПР, аппарат Гольджи, митохондрии). 80 S рибосомы. Основными компонентами прокариотической клетки:*Клеточная стенка*, защищает клетку, придаёт форму, предотвращающую от осмотического разрушения. У бактерий клеточная стенка состоит из пептидогликана (муреина): Г+ — более простая структура стенки - муреин; Г- — меньше пептидогликана и доп внешнюю мембрану из фосфолипидов. *Капсула* — имеющаяся у некоторых бактерий слизистая оболочка, расположена снаружи от клеточной стенки. Состоит из разнообразных белков, углеводов и уроновых кислот, защищают клетки от высыхания, прикрепление, вирулентность. *Жгутики*, *Плазматическая (и внутренние) мембраны*. Мембрана, состоит из фосфолипидов и белков. *Нуклеоид* — не ограниченный мембранами участок цитоплазмы, в котором расположена кольцевая молекула ДНК — «бактериальная хромосома», где хранится весь генетический материал клетки.*Плазмиды* — небольшие дополнительные кольцевые молекулы ДНК, придают определенные полезные для нее свойства. *Рибосомы* отвечают за процесс трансляции. Эндоспоры — окруженные плотной оболочкой структуры, содержащие ДНК бактерии иобеспечивающее выживание в неблагоприятных условиях. Для образования эндоспоры клетка реплицирует свою ДНК и окружает копию плотной оболочкой, из структуры удаляется избыток воды, и метаболизм замедляется.

Строение эукариот.клетки. Поверхностный комплекс животной клетки состоит из гликокаликса, плазмалеммы и расположенного под ней кортикального слоя цитоплазмы. *Плазматическая мембрана*(ПМ)- биол. мембрана, толщиной 10 нм, выполняет транспортную функцию. *Гликокаликс*– олигосахариды, полисахариды, гликопротеины и гликолипиды, выполняет рецепторную и маркерную функции.*ПМ*животных клеток в основном состоит из фосфолипидов и липопротеидов со вкрапленными в неё молекулами белков, в частности, поверхностных антигенов и рецепторов. Элементы цитоскелета — актиновыемикрофиламенты. Цитоплазма. Передвижение органоидов координируется при помощи специализированных транспортных систем – микротрубочек. ЭПР на котором находятся рибосомы – гранулярная, на ней идёт синтез белков; ЭПР без рибосом – гладкая, участвует в синтезе липидов. Аппарат Гольджи представляет собой стопку плоских мембранных цистерн. В цистернах АГ созревают некоторые белки, синтезированные на мембранах гранулярного ЭПР. *Клеточное ядро* содержит молекулы ДНК, В ядре происходит репликация ДНК, а также транскрипция — синтез молекул РНК на матрице ДНК. Сборка рибосом также в ядре, в ядрышках. *Лизосомы* –шарик, ограниченный от цитоплазмы одинарной мембраной, основная функция — автолиз. *Митохондрии* - синтез АТФ, это двумембранный органоид. Внутренняя мембрана митохондрии образует складки, - кристы. Есть ДНК-геном и рибосомы.

Химический состав клетки. Вода – 70-80%, минер.соли – 1-1,5%, белки -10-20%, углеводы – 0,-2%, жиры – 1-1,5%, НК – 1-2%, АТФ и др. – 0,1-0,5%. Микроэлемнты: О2 (70 %), С (15%), Н2 (10 %), N (3, %),K (до 0,4 %), S (0,2 %), P (0,2 %), Cl (0,1 %), Mg (0,03 %), Na (0,02—0,03 %), Ca (0,04—2,00 %), Fe (0,01—0,015 %). Такие элементы, как C, O, H, N, S, P входят в состав органических соединений. Микроэлементы (от 0,001 %) –I, Co, Mn, Ni, F, Cu, хром, цинк. Ультрамикроэлементы (0,0000001 %) - золото, серебро, ртуть, платина.

3. Структура, свойства и состав биологических мембран у прокариотных и эукариотных клеток.

Клеточная стенка - важный и обязательный структурный элемент подавляющего большинства прокариотных клеток, располагающийся под капсулой или слизистым чехлом или же непосредственно контактирующий с окружающей средой (у клеток, не содержащих этих слоев клеточной оболочки). На долю клеточной стенки приходится от 5 до 50% сухих веществ клетки. Клеточная стенка служит механическим барьером между протопластом и внешней средой и придает клеткам определенную, присущую им форму. Концентрация солей в клетке, как правило, намного выше, чем в окружающей среде, и поэтому между ними существует большое различие в осмотическом давлении. Клеточная стенка чисто механически защищает клетку от проникновения в нее избытка воды.

По строению и химическому составу клеточная стенка прокариот резко отличается от таковой клеточной стенки эукариотных организмов. В ее состав входят специфические полимерные комплексы, которые не содержатся в других клеточных структурах.

В отличие от животных клеток, бактериальная клетка окружена не только цитоплазматической мембраной, но и плотной клеточной стенкой, которая придает бактериям характерную форму и позволяет им существовать в условиях трансмембранного градиента осмотического давления. Клетки большинства бактерий покрыты оболочкой - полимерной субстанцией, которая имеет множество свойств и функций. Эта оболочка, или капсула, отлична от двухслойной мембраны и располагается над ней (Whitfield, 1988). У бактерий термин "капсула" используется для определения высокомолекулярных полимеров, которые "прикрепляются" к поверхности бактерий. Кроме того, клетки большинства прокариот окружены мономолекулярным экстраклеточным полимером, который обеспечивает поддержание формы микроорганизма (Weidel, Pelzer, 1964 ). Эта структура, называемая клеточной стенкой, состоит из пептидогликана.

У бактерий для синтеза капсулярного полисахарида требуется несколько ферментов. Так, для синтеза капсулы у Escherichia coli необходимо 12 белков, информация о которых содержится в 15 т. п. о. геномной ДНК (Silver et al., 1984). Капсулы стрептококков группы В содержат 4 различных моносахарида с повторяющимися единицами, а для кодирования необходимых белков требуется более 30 т. п. о. геномной ДНК (Kuypers et al., 1989).

Химический состав и строение клеточной стенки постоянны для определенного вида и являются важным диагностическим признаком.

В зависимости от строения клеточной стенки прокариоты, относящиеся к эубактериям, делятся на две большие группы. Было обнаружено, что если фиксированные клетки эубактерий обработать сначала кристаллическим фиолетовым, а затем йодом, образуется окрашенный комплекс. При последующей обработке спиртом в зависимости от строения клеточной стенки судьба комплекса различна: у так называемых грамположительных видов этот комплекс удерживается клеткой, и последние остаются окрашенными, у грамотрицательных видов, наоборот, окрашенный комплекс вымывается из клеток, и они обесцвечиваются. (Этот способ был впервые предложен в 1884 г. датским ученым Х.Грамом (Ch.Gram), занимавшимся окрашиванием тканей. Позднее он был использован для бактерий).

У некоторых эубактерий положительная реакция при окрашивании описанным выше способом свойственна только клеткам, находящимся в стадии активного роста. Выяснено, что окрашенный комплекс образуется на протопласте, но его удерживание клеткой или вымывание из нее при последующей обработке спиртом определяются особенностями строения клеточной стенки.

Клеточные стенки грамположительных эубактерий и грамотрицательных эубактерий резко различаются как по химическому составу, так и по ультраструктуре.

В состав клеточной стенки эубактерий входят семь различных групп химических веществ, при этом пептидогликанприсутствует только в клеточной стенке. У грамположительных эубактерий он составляет основную массу вещества клеточной стенки (от 40 до 90%), у грамотрицательных - содержание пептидогликана значительно меньше (1-10%). Клеточная стенка цианобактерий , сходная с таковой грамотрицательных эубактерий, содержит от 20 до 50% этого гетерополимера.

Под электронным микроскопом клеточная стенка грамположительных эубактерий выглядит как гомогенный электронно-плотный слой, толщина которого колеблется для разных видов от 20 до 80 нм. У грамотрицательных эубактерий обнаружена многослойная клеточная стенка. Внутренний электронно-плотный слой толщиной порядка 2-3 нм состоит из пептидогликана. Снаружи к нему прилегает, как правило, волнистый слой (8-10 нм), имеющий характерное строение: две электронно-плотные полосы, разделенные электронно-прозрачным промежутком. Такой вид характерен для элементарных мембран. Поэтому трехконтурный внешний компонент клеточной стенки грамотрицательных эубактерий получил название наружной мембраны.

Клеточная стенка грамположительных эубактерий плотно прилегает к ЦПМ в отличие от клеточной стенки грамотрицательных видов, компоненты которой (пептидогликановый слой и наружная мембрана) разделены электронно-прозрачным промежутком и четко отделены аналогичным образом от ЦПМ. Пространство между цитоплазматической и наружной мембранами получило название периплазматического. Оно, как можно видеть из строения клеточных стенок обеих групп эубактерий, характерно только для грамотрицательных форм.

Основную массу клеточной стенки грамположительных эубактерий составляет специфический гетерополимер -пептидогликан. Полисахаридный остов молекулы построен из чередующихся остатков N-ацетилглюкозамина и N-ацетилмурамовой кислоты, соединенных между собой посредством бета-1,4- гликозидных связей. К N-ацетилмурамовой кислоте присоединен короткий пептидный хвост, состоящий из небольшого числа (обычно 4-5) аминокислот. У грамположительных эубактерий обнаружено более 100 различных химических типов пептидогликана. Большинство различий относится к пептидной части его молекулы.

У грамотрицательных эубактерий строение клеточной стенки намного сложнее, чем строение клеточной стенки грамположительных эубактерий. В ее состав входит гораздо большее число макромолекул разного химического типа. Пептидогликан образует только внутренний слой клеточной стенки, неплотно прилегая к ЦПМ. Для разных видов грамотрицательных эубактерий содержание этого гетерополимера колеблется в широких пределах. У большинства видов он образует одно- или двухслойную структуру, характеризующуюся весьма редкими поперечными связями между гетерополимерными цепями.

Капсулы, слизистые слои и чехлы. Химический состав, структура, функции. Жгутиковый аппарат бактерий. Строение, химический состав, расположение жгутиков. Механизм движения. Микроворсинки: обыкновенные пили, F-пили. Химический состав, строение, функции.

Многие микроорганизмы продуцируют на поверхности клетки слизистое вещество. В зависимости от толщины слизистого слоя принято различать микрокапсулу толщиной до 0,2 мкм (она видима лишь в электронном микроскопе). Связь микрокапсулы с клеточной стенкой настолько прочна, что ее иногда предлагают рассматривать как элемент клеточной стенки. Макрокапсула представлена слоем слизи толщиной более 0,2 мкм. Слизью называют вещество, окружающее клетку, имеющее аморфный, бесструктурный вид и легко отделяющееся от поверхности бактериальной клетки, а по толщине часто превосходящее ее диаметр.

Капсулы и слизь не являются обязательными структурами бактериальной клетки, так как бактерии, их образующие, в результате мутаций легко могут превращаться в бескапсульные формы, и эти изменения не приводят к какому-либо нарушению клеточной активности.

В большинстве случаев капсула образована полисахаридами (например, у бактерий вида Streptococcus mutans, некоторых представителей родов Xanthomonas, Klebsiella, Corynebacterium и др.). Капсулы же других видов бактерий состоят из полипептидов, представленных полимерами, в которых содержится много D- и L-форм глутаминовой кислоты.

Примером такой капсулы является капсула бактерий Bacillus anthracis. Для ряда бактерий показана также способность синтезировать капсулу, состоящую из волокон целлюлозы. Так построена капсула у бактерий Sarcina ventriculi.

Слизи по химической природе являются полисахаридами. Особенно обильное их образование наблюдается у многих микроорганизмов при выращивании на среде с сахарозой. Например, бактерии Leuconostoc mesenteroides (относящиеся к молочнокислым бактериям) быстро превращают раствор, содержащий тростниковый сахар, в декстрановый гель, за что их на сахарных заводах называют «бактериями лягушачьей икры».

Капсулы и слизи выполняют следующие функции:

• защитную – предохраняют клетку от действия различного рода неблагоприятных факторов внешней среды (механических повреждений высыхания и т. п.);

• создают дополнительный осмотический барьер; • способны выступать в качестве фактора вирулентности у некоторых бактерий (например, у Streptococcus pneumoniae); • служат барьером для бактериофагов, препятствуя их адсорбции на клетках бактерий; • являются источником запасных питательных веществ; • объединяют клетки в цепочки, колонии; • обеспечивают прикрепление клеток к поверхности субстрата.

Капсульные полисахариды, образуемые бактериями, имеют большое практическое значение. Ксантан, внеклеточный полисахарид бактерий Xanthomonas campestris, используется в составе смазок, при добыче нефти, в пищевой промышленности для улучшения вкусовых свойств консервированных и замороженных продуктов, соусов, кремов, а также в косметической промышленности. Декстраны, синтезируемые бактериями Leuconostoc mesenteroides и некоторыми другими бактериями, находят применение в качестве кровезаменителей, для лечения ожогов, разделения и очистки биологических молекул, в качестве полиэлектролитов.

В отличие от капсул и слизистых слоев, чехлы имеют сложную тонкую структуру; в их составе выявляют несколько слоев разного строения.

Чехлы обычно имеют и более сложный химический состав. Например, чехол бактерий Sphaerotilis natans содержит 36 % углеводов, 11 –гексозамина, 27 – белков, 5,2 – липидов и 0,5 – фосфора. Чехлы ряда бактерий, метаболизм которых связан с окислением восстановленных соединений металлов, часто инкрустированы их окислами.

Следует отметить, что между капсулами, чехлами и слизистыми слоями у прокариот обнаружено много переходных форм, что часто не позволяет точно отличить капсулу от слизистых клеточных выделений или капсулу от чехла.

Функции капсулы - Капсула предохраняет бактерии от повреждений, высыхания. Она препятствует фагоцитозу бактерий. Капсула антигенна: антитела против капсулы вызывают её увеличение (реакция набухания капсулы) Капсула создаёт дополнительный осмотический барьер и является источником резервных веществ.

**Биомембраны** - структуры, ограничивающие клетку (клеточные или цитоплазматические мембраны) и внутренние органоиды. **Функции**:1. Барьерная, организует разделения отдельных участков клетки на компартменты; 2.Транспортная, межклеточные контакты и иммунологические ответы; 4.Матричная (синтез белка); 5. Защитная. 6.Рецепторная. **Хим. Состав**: белки, углеводы, липиды: фосфолипиды, гликолипиды, стероиды(холестерин). Фосфолипиды делят: глицерофосфолипиды (фосфотидилхолин, фосфотидилсерин, фосфотидилэтаноламин и фофотидилинозитол), сфингофосфолипиды (сфингомиелины), гликолипиды (сульфатиды, цереброзиды, ганглиозиды). В весовом соотношении белки составляют 40-60%, углеводы 10% (свободные олигосахариды), остальное приходится на липиды, а часть входит в состав сложных липидов(гликолипидов) или белков(гликопротеидов). Мембрана состоит из белковых молекул и липидного бислоя - гидрофильные головки и гибдрофобные хвосты (жирнокислые цепи). **Липидный бислой может существовать в двух состояния**: твердый двумерный кристалл и жидкокристаллическое состояние. Плотность липидного бислоя поддерживается за счет холестерина и жирных кислот. Холестерин влияет на подвижность хвостов. Толщина 10нм. В этот бислой погружены белки: **интегральные** - пронизывающие липидный бислой насквозь (Na, К-АТФ-аза, Са-АТФ-аза), переходные(**полуинтегральные**) – частично пронизывающие мембрану, **переферические** – прикрепляются к поверхности мембраны (фосфотаза, белки – рецепторы). В 1935г Предложена модель Даниэля-Давсона, которые предположили, что мембрана состоит из двойного липидного слоя, а белок находится на поверхности. В 1972г Сенгер и Николсон выдвинули жидкостно-мазаичную модель мембраны, т.е. мембрана представляет фосфолипидный бислой, в который погружены свободно перемещающиеся белки. В настоящее время популярна теория **жидко - мозаичного** строения мембраны. Явление асимметрии необходимо для поддержания исходной формы клеток, фиксации белковой ориентации, обеспечения распознавания антигенов, вязкости мембран. **Ассиметрия**-такое состояние мембраны, при котором её внешние и внутренние строны различны по белковому и липидному составу. Существуют два механизма его возникновения:**1**. Ассиметрия возникает потому,что в случае замкнутого липидного бислоя липиды с более объемными головками стремяться находиться в наружном монослое, т.к. там площадь поверхности приходящаяся на полярную голову больше. По этой причине фосфотидилхолин и сфингомиелин находятся в наружном монослое, а фосфотидилсерин и фосфотидилэтаноламин – во внутреннем. **2**. Реализация за счет различий в составе среды по обе стороны мембраны. С внеклеточной стороны мембрану омывает среда с высоким содержанием натрия и сальция, с другой контактирует с магнием и калием. Этот фактор обеспечивает создание градиента кривизны, складок и сморщиваний. **Молекулы фосфолипидов способны к нескольким видам подвижности**: 1. Изменение ориентации полярных голов;2.Латеральное движение(продольное);3.Колебание жирных кислот;4.Возникновение кинков(петлей);5.Флип-флоп переход. Латеральная диффузия **–** перемещение липидов в продольном направлении в пределах одного монослоя. Флип-флоп переход **-** переход молекул из одного монослоя в другой.

Другие функции:

1) барьерная (отграничение внутреннего содержимого клетки);

2) структурная (придание определенной формы клеткам в соответствии с выполняемыми функциями);

3) защитная (за счет избирательной проницаемости, рецепции и антигенности мембраны);

4) регуляторная (регуляция избирательной проницаемости для различных веществ (пассивный транспорт без затраты энергии по законам диффузии или осмоса и активный транспорт с затратой энергии путем пиноцитоза, эндо- и экзоцито-за, работы натрий-калиевого насоса, фагоцитоза)). Путем фагоцитоза поглощаются целые клетки или крупные частицы (например, вспомните питание у амеб или фагоцитоз защитными клетками крови бактерий). При пиноцитозе происходит поглощение мелких частиц или капелек жидкого вещества. Общим для обоих процессов является то, что поглощаемые вещества окружаются впячивающейся наружной мембраной с образованием вакуоли, которая затем перемещается в глубь цитоплазмы клетки. Экзоцитоз представляет собой процесс (будучи также активным транспортом), противоположный по направлению фагоцитозу и пиноцитозу (рис.13). С его помощью могут выводиться непереваренные остатки пищи у простейших либо образованные в секреторной клетке биологически активные вещества.

5) адгезивная функция (все клетки связаны между собой посредством специфических контактов (плотных и неплотных));

6) рецепторная (за счет работы периферических белков мембраны). Существуют неспецифические рецепторы, которые воспринимают несколько раздражителей (например, холодовые и тепловые терморецепторы), и специфические, которые воспринимают только один раздражитель (рецепторы световоспринимающей системы глаза);

7) электрогенная (изменение электрического потенциала поверхности клетки за счет перераспределения ионов калия и натрия (мембранный потенциал нервных клеток составляет 90 мВ));

8) антигенная: связана с гликопротеинами и полисахаридами мембраны. На поверхности каждой клетки имеются белковые молекулы, которые специфичны только для данного вида клеток. С их помощью иммунная системы способна различать свои и чужие клетки. Обмен веществ между клеткой и окружающей средой осуществляется разными способами — пассивными и активными.

4. Механизмы транспорта веществ в клетке. Активный и пассивный транспорт.

Поступление нейтральных молекул и ионов в клетку осуществляется за счет пассивного и активного транспорта. Пассивный транспорт не связан прямо с затратой химической энергии; он осуществляется в результате диффузии веществ в сторону меньшего электрохимического потенциала.

Различают следующие виды пассивного транспорта веществ в клетках и тканях: диффузия, осмос, фильтрация.

**Диффузия**−основной механизм пассивного транспорта веществ, обусловленный наличием концентрационного градиента.

Различают несколько **видов диффузии**:

-простая диффузия, когда диффундирующее вещество движется по градиенту через мембрану, не образуя комплекса или проникая через канал;

-ограниченная диффузия, когда ион, проходящий через мембрану, подвергается воздействию заряженных групп белков, находящихся в канале и ограничивающих скорость поступления вещества в клетку;

- облегченная диффузия, осуществляемая с помощью так называемых переносчиков −белков или молекулярных комплексов, обладающих специфическим сродством к определенным веществам.

**Осмос**−это процесс перемещения молекул растворителя (воды) через полупроницаемую мембрану из области меньшей концентрации растворенного вещества в область большей. Сила, вызывающая движение растворителя, называется осмотическим давлением.

**Фильтрация** −это процесс проникновения жидкости через поры какой-либо перегородки под действием гидростатического давления.

**Простая диффузия**−это самопроизвольный физический процесс проникновения вещества из области высокой в область меньшей его концентрации в результате теплового хаотического (броуновского) движения молекул. Математическое обоснование процесса диффузии впервые дал А. Фик. Согласно первому закону Фика поток диффузии прямо пропорционален градиенту концентрации dC/dx:

J = -D(dC/dx)

где J−количество молей вещества, перенесенного за единицу времени, моль•см-2•с-1; D −коэффициент диффузии, см2/с-; С−концентрация; х −координата.

Диффузия осуществляется в следующих основных случаях:

−перенос ионов или вещества в неперемешиваемых слоях вблизи мембраны;

−транспорт неэлектролитов (газов) через мембрану.

**Облегченная диффузия** имеет большое значение для функционирования клетки. Установлено, что скорость проникновения в клетку глюкозы, глицерина, аминокислот и некоторых других веществ не имеет линейной зависимости от их концентрации. Причем при определенных концентрациях скорость их проникновения значительно выше, чем при простой диффузии. Эта особенность объясняется тем, что в данном случае наблюдается не простая, а облегченная диффузия, механизм которой заключается в следующем. Вещество самостоятельно диффундирует через мембрану, но скорость диффузии намного возрастает, если молекулы этого вещества (А) образуют комплекс с молекулами переносчика (X), который хорошо растворяется в липидах. На поверхности мембраны молекулы А соединяются с молекулами X и в виде комплекса АХ проникают в клетку. Далее молекулы А освобождаются, а молекулы переносчика диффундируют к наружной поверхности мембраны и связываются с новыми молекулами А. Диффузия с участием переносчика, как и простая, происходит до тех пор, пока концентрация по обе стороны мембраны не станет одинаковой. Если количество вещества в среде повысить так, что при этом израсходуются все молекулы вещества X, то скорость диффузии при дальнейшем повышении концентрации вещества А увеличиваться не будет.

Данный тип диффузии осуществляется с помощью как подвижных, так и фиксированных в мембране переносчиков. В ионном канале цепь фиксированных переносчиков может выстилать изнутри пору канала и молекула проникающего вещества в этом случае передвигается от одного участка цепи к другому. Участие переносчика в осуществлении данного механизма диффузии подтверждается конкуренцией между веществами при их проникновении в клетку. Так, поступление глюкозы в мышечные волокна уменьшается при введении в среду арабинозы или маннозы. Данная конкуренция обусловлена тем, что при добавлении в среду этих сахаров в равной мере используются молекулы переносчика и это затрудняет транспорт глюкозы. Если переносимое вещество образует прочный комплекс с переносчиком, то соединение последнего с другими веществами исключается и перенос одного из веществ будет осуществляться максимально быстро.

Разновидностью облегченной диффузии является так называемая обменная диффузия, при которой переносчик образует соединение с диффундирующим веществом и перемещается с ним от одной поверхности мембраны к другой, где молекула переносчика освобождается, ее место занимает другая молекула того же вещества и комплекс переносится обратно. При работе переносчиков в случае обменной диффузии концентрация вещества по обе стороны мембраны не изменяется. Существование обменной диффузии было доказано методом меченых атомов на эритроцитах, митохондриях и др.

**Осмос и фильтрация**

Молекула воды проходит сквозь клеточные стенки в результате различий гидростатического давления и осмоса. **Осмос**−это процесс перемещения молекул растворителя (воды) через полупроницаемую мембрану из области меньшей концентрации растворенного вещества в область большей. Сила, вызывающая движение растворителя, называется осмотическим давлением. Осмотическое давление раствора зависит от количества растворенных ионов и температуры. В соответствии с уравнением Вант-Гоффа осмотическое давление (π) раствора прямо пропорционально концентрации (С) растворенного вещества и абсолютной температуре раствора (T):

π = iRTC,

где i −изотонический коэффициент, зависящий от степени диссоциации электролита и показывающий, во сколько раз увеличивается количество растворенных частиц при диссоциации молекул; для неэлектролитов i=l , для электролитов i > 1; R −газовая постоянная.

Предполагается, что осмотическое давление обусловлено воздействием на мембрану молекул, растворителя. Число молекул раствортеля, достигающих мембраны со стороны раствора, меняется, так как часть площади поперечного сечения мембраны занята частицами растворенного вещества. Исходя из этого можно считать, что осмос представляет собой диффузию молекул растворителя.

Обычно вода проникает в клетку до тех пор, пока не выравняется осмотическое давление между клеткой и средой.

Перенос воды может также осуществляться путем **фильтрации**, происходящей главным образом при наличии градиента гидростатического давления. Фильтрация −это процесс проникновения жидкости через поры какой-либо перегородки под действием гидростатического давления.

Фильтрация и осмос играют большую роль в процессе обмена воды между кровью и тканью. Осмотическое давление крови человека равно 760 - 780 кПа.

В 1960-х гг. были обнаружены ионофоры −небольшие гидрофобные молекулы, способные растворяться в липидных бислоях и повышать их проницаемость для ионов. Многие ионофоры синтезируются микроорганизмами и обладают свойствами антибиотиков (транспортные антибиотики).

Различают два класса ионофоров−**подвижные** переносчики ионов и **каналообразующие** ионофоры.

Ионофоры первого класса переносят ионы через углеводородную область мембраны, и их активность связана с собственной диффузией через мембрану. К этой группе принадлежат валиномицин, нигерицин, нонактин, кальциевые ионофоры и иономицин.

Ко второй группе транспортных антибиотиков относятся каналообразователи, формирующие канал, который пронизывает мембрану. В начале транспорта ион входит в него на одной стороне мембраны, диффундирует по нему и выходит на другой. Стимуляция транспорта ионов по этому механизму не связана с движением (латеральная диффузия) самого антибиотика-каналообразователя в мембране. К этой относятся грамицидин А, полиеновые антибиотики (нистатин, амфотерицин В, аламетицитин).

Активный транспорт подразумевает перенос веществ, как правило, против электрохимического градиента с участием АТФаз с затратой энергии гидролиза АТФ непосредственно в акте переноса (это **первично-активный транспорт**); **вторично-активный транспорт** - это перенос соединений за счет предварительно созданных градиентов, за счет первично-активного транспорта. Вторично-активный транспорт обеспечивает котранспорт глюкозы (сахаров), аминокислот за счет создания градиента ионов натрия на мембране и его уменьшения во время транспорта веществ. У низших эукариот для этой цели используюся градиенты протонов, ионов натрия. Для транспорта одной и той же аминокислоты могут использоваться 3-4 разных переносчика.

Под **активным транспортом** в биофизике клетки понимают перенос неэлектролитов и ионов против химического или электрохимического градиента. Активный транспорт непосредственно связан с энергетическими затратами и, как и пассивный, подчиняется кинетике насыщения.

Отличие активного транспорта от пассивного заключается именно в наличии стадии, сопряженной с трансформацией энергии. В настоящее время принято говорить о первично-активном и вторично-активном транспорте. **Первично-активным** называется транспорт, осуществляемый транспортными АТФ-азами за счет энергии гидролиза АТФ. **Вторичноактивный транспорт** — это процесс, источником энергии для которого служит градиент ионов, возникший, например, в ходе первично-активного транспорта. Типичный пример первично-активного транспорта — активный транспорт ионов с помощью АТФ-аз. Функция насосов заключается в переносе ионов через мембрану против электрохимического градиента за счет энергии гидролиза АТФ. В соответствии с этим АТФ-азы — ионные насосы, обладающие аденозинтрифосфатфосфогидролазной активностью.

Все транспортные АТФ-азы прокариот. и эукариотических клеток можно разделить на три типа: P, V и F. Общим свойством АТФ-аз **Р-типа** является способность образовывать ковалентный фосфорилированный интермедиат (Рн) в активном центре. К ним относятся Na, K-, Са- и Н-АТФ-азы плазматических мембран. Ранее АТФ-азы Р-типа называли ферментами Е1/Е2-типа. Однако номенклатуру изменили, потому что существуют и другие ферменты, не имеющие отношения к транспорту ионов (например, миозиновая АТФ-аза), которые также могут находиться в конформациях Е1 и Е2.

Ионотранспортирующие АТФ-азы **V-типa** относятся к мембранносвязанным структурам. Они обнаруживаются в вакуолях дрожжей и тонопластах растений, лизосомах, секреторных гранулах и т. д. АТФ-азы V-типа широко распространены, но изучены недостаточно. Им присущи 3 основных свойства: они являются переносчиками протона; в ходе каталитического цикла образуют ковалентный фосфорилированный интермедиат; представляют собой высокомолекулярные мультисубъединичные комплексы.

АТФ-азы **F-типa**, выделенные из мембран бактерий, хлоропластов и митохондрий, содержат как водорастворимую часть F1, состоящую из 66 нескольких субъединиц и обладающих каталитической активностью (способны катализировать и синтез, и гидролиз АТФ), так и гидрофобную часть Fo, участвующую в транслокации Н+.

**Симпорт** - одновременный и однонаправленный перенос ионов или молекул двух различных веществ, например перенос ионов натрия и глюкозы через мембрану клеток эпителия тонкой кишки; Предполагается, что в мембране могут находиться две электронейтральные частицы: переносчик в комплексе с катионом и анионом и пустой переносчик. Поскольку мембранный потенциал в такой схеме переноса не изменяется, то причиной переноса может быть разность концентраций одного из ионов. Считается, что по схеме симпорта осуществляется накопление клетками аминокислот. Калий-натриевый насос создает начальный градиент концентрации ионов натрия, которые затем по схеме симпорта способствуют накоплению аминокислот. Из схемы симпорта следует, что этот процесс должен сопровождаться значительным смещением осмотического равновесия, поскольку в одном цикле через мембрану переносятся две частицы в одном направлении.

**Антипорт** - одновременный транспорт ионов или молекул вещества через мембрану в противоположных направлениях.Предполагается при этом, что молекула-переносчик образует прочный комплекс с каждым из переносимых ионов. Перенос осуществляется в два этапа: сначала один ион пересекает мембрану слева направо, затем второй ион - в обратном направлении. Мембранный потенциал при этом не меняется. Движущей силой этого процесса является разность концентраций одного из переносимых ионов.лассическим примером антипорта служит перенос через клеточную мембрану ионов калия и водорода с участием молекулы антибиотика нигерицина.

Три обязательных стадии: 1. Захват одного типа ионов или обмен на другой тип на одной стороне мембраны 2. Перенос их на другую сторону 3. Выделение ионов или обмен их на противоположной стороне

5. Механизмы возникновения потенциалов покоя и действия. Структура и функционирование ионных каналов.

**Биоэлектрические явления**– это клеточные процессы, сопровождающиеся перераспределением и транспортом электрич. зарядов, обусловл. присутствиемем в кл-ке фиксирован. (заряж. группы белков и ФЛ) и подвижн. (своб. ионы иэлектроны) электрич. зарядов.

Разность потенциалов между внутренними и наружними поверхностями мембраны в состоянии физиологического покоя называется **потенциалом покоя 70-90мВ**. Большая часть ионов К протоплазмы находится в свободном состоянии. Концентрация ионов К внутри клетки в 10,20 раз выше, чем снаружи. Избыток «+» ионов К внутри клетки компенсируется в основном органическими анионами (ПВК, уксусная кислота и др). ПП можно измерить с помощью микроэлектрода. В основном потенциал покоя обеспечивается ионами К. Уравнение Нернста для потенциала покоя: Мембрана проницаема не только для ионов К, но и для Na и Cl. Поэтому для более точного вычисления потенциала покоя используют уравнение Гольдмана Р – коэфиуиент проницаемости. В состоянии покоя РК:РNa:PCl=1:0.04:0.45

**2. Потенциал действия** – изменение мембранного потенциала обусловленного изменением ионной проницаемости мембраны и связанная с распространением волны возбуждения. Фазы ПД: Деполяризация, Реполяризация, Гиперполяризация.

Критическая (пороговая) деполяризация мембраны ведет к увеличению проницаемости для натрия, избыточный отрицательный заряд на внутренней стороне мембраны исчезает, что обеспечивает перезарядку мембраны, - появление восходящей фазы высоковольтной части ПД (пика или спайка). При длительной деполяризации натриевая проницаемость снижается, а калиевая возрастает (уменьшение мембранного потенциала), - нисходящую фазу. ПП восстанавливается. Проницаемость ионов для калия падает до исходной величины, наружная поверхность мембраны снова приобретает + потенциал за счет вышедших в среду + зараженных ионов калия - фаза реполяризации, она продолжительнее деполяризации. Иногда проницаемость мембраны для ионов К после окончания возбуждения остается повышенной, что формирует фазу - гиперполяризации. Поток ионов натрия внутрь клетки приводит к перезагрузки мембраны, а противоположно направленный поток ионов калия – к восстановлению исходного потенциала покоя. Процесс возбуждения скоротечен, занимает миллисекунды, поэтому для его наблюдения используют различные методы: 1. Метод фиксации потенциала - регистрировать ионные токи. 2. Метод перфузии-замена раствором с заданным составом. 3. Петч-клямп - регистрировать токи одиночных ионных каналов.

*Кабельная теория* для описания проведения биоэлектрических потенциалов вдоль цилиндрической клетки. Клетку можно представить в виде отрезка кабеля, помещенного в проводящую среду и имеющего клеточную мембрану, которая играет роль изоляции.

**Распрастранениевозб-я.** 3 типа передачи информации: прямая (от клетки к клетке), гуморальная (продукты обмена), нервная.

Теория местных токов: между возбуждённым и невозбуждённым участками волокна возникают токи. Ток, выходящий из волокна, - раздражитель для соседнего участка, который возбуждается, а предыдущий – уже нет, возбуждение движется в одном направлении. На проведение ПД влияет: окружающая среда (сопротивления), диаметра волокна, миелинизация.

**Ионные каналы (ИК)** - это мембранные молекулярные структуры, образованные интегральными (трансмембранными) белками, пронизывающими клеточную мембрану поперёк в виде нескольких петель и образующими в мембране сквозной канал (пору). Канальные белки состоят из субъединиц. ИК могут иметь несколько участков для связывания с управляющими веществами (лигандами). Перенос веществ может осуществляться специальными транспортными белками, или транслоказами - взаимодействуют с в-вом как с лигандом и при этом претерпевают конформационные изменения. По кинетике напоминает ферментативную реакцию.

**Строение ИК.** ИК состоят из белков сложной структуры (белков-каналоформеров). Состоит либо из одной белковой молекулы, либо из нескольких белковых субъединиц, одинаковых или разных по строению, или единый полипептид, который в виде петель прошивает мембрану несколько раз. Практически все ИК имеют в составе своих субъединиц регуляторные домены, способные связываться с различными управляющими веществами (регуляторными молекулами) и за счёт этого менять состояние или свойства канала (спец набор АК). При изменении потенциала такой сенсор меняет состояние канала с открытого на закрытое или наоборот.

**Свойства ИК.** Селективность -Na, Cl, K. Управляемая проницаемость - способность ИК открываться или закрываться при определённых управляющих воздействиях на канал. Например, потенциал-активируемые, лиганд-активируемые и т.д. Инактивация - это способность ИК через некоторое время после своего открытия автоматически понижать свою проницаемость даже в том случае, когда открывший их активирующий фактор продолжает действовать. Быстрая инактивация - это особый процесс со закрытия канала за счёт процессов, противоположных процессам, обеспечившим его открытие. Блокировка - способность ИК под действием веществ-блокаторов фиксировать какое-то одно своё состояние и не реагировать на обычные управляющие воздействия (вещества-блокаторы). Пластичность - это способность ИК изменять свои свойства, свои характеристики - это фосфорилированиеАК канальных белков, фиксируется в постоянно закрытом состоянии или открытом.

**Функции ИК**. Функции ИК:**1**. Регуляция водного обмена клетки: объём и тургор.**2**. Регуляция pH: закисление и защелачивание.**3**. Регуляция ионного обмена (обмен солей): изменение внутриклеточного ионного состава и концентрации.**4**. Создание и изменение мембранных потенциалов: ПП, ПД; **5**. Проведение возбуждения в возбудимых клетках: обеспечение движения нервных импульсов.**6.** Преобразование раздражения в возбуждение. **Функциональные состояния ИК.** 1. Открытое. 2. Закрытое. 3. Активированное. Канал открываться и закрываться под действием его регуляторов (в-в или эл потенциалов).4. Инактивированное. Канал не может выполнять свои функции, он "фиксируется" в одном состоянии.5. Блокированное. Канал перекрыт, инактивирован веществом-антагонистом (блокатором). 6.Модулированное (фосфорилированное). Канал изменяет свои обычные свойства под действием фосфорилирования. **Классификация ИК.1**. По селективностиNa, Cl, K. **2**. По строению (родству их химического строения и происхождения образующих их белков).: 1) семейство с пуриновыми рецепторами (АТФ-активируемые), 2) с никотиновыми АХ-рецепторами, ГАМК-, глицин- и серотонин-рецепторами, 3) с глутаматными рецепторами. **3**. По способу управленияих состоянием. ( потенциал-управляемых каналах, хемо-управляемых). **4**. По связывающимся с ними лигандам (в том числе веществам-маркёрам) и т.д.

6. Термодинамика биологических процессов.

Термодинамика - наука о законах превращения энергии одного вида в другой. Система – совокупность материальных объектов, отграниченных каким-либо образом от окружающей среды. 1) Изолированная - система не обменивается с окружающей средой ни веществом, ни энергией. 2) Замкнутая - может обмениваться с окружающей средой энергией и не может обмениваться веществом. 3) Открытая - обменивается с окружающей средой и веществом и энергией. Живые организмы являются открытыми. Энергия –количественная мера определенного вида движения материи при ее превращении из одного вида в другой. Энергия определяет способность системы совершать работу. а). Механическая энергия -характеризует движение макротел, способность совершать механическую работу. б). Тепловая энергия - сумма кинетических энергий хаотического теплового движения всех атомов и молекул вещества. в) Химическая- энергия взаимодействия атомов в молекуле. г) Электрическая - энергия взаимодействия электрически заряженных частиц вызывающая движение этих частиц в электрическом поле. Работа – мера превращения энергии из одной формы в другую. 1 закон термодинамики. Общая сумма энергии материальной системы остается постоянной величиной независимо от изменений, происходящих в системе: изменение энергии системы возможно в результате обмена энергией с окружающей средой. Закон сохранения энергии - энергия не исчезает и не возникает, а лишь переходит из одной формы в другую в эквивалентных количествах. Внутренняя энергия системы - общая сумма всех видов энергий в данной системе. Математически 1 закон термодинамики выражается: изменение внутренней энергии системы равно алгебраической сумме тепла, переданного в процессе совершенной работы. а) Химическая работа – в ходе хим реакций. б) Механическая работа по перемещению частей и органов тела против механических сил. в) Осмотическая - работа по переносу различных веществ через мембраны от низкой концентрации в более высокую. г) Электрическая работа – работа по переносу заряженных частиц в электрическом поле, создания разности эл потенциалов и эл тока. Работа по высвечиванию - за счет химической энергии клеток. Первичным источником энергии в организме для все видов работ является химическая энергии пищевых веществ (белки, жиры, углеводы) выделяющаяся при их окислении. ( для растений 1- ым источником энергии является энергия солнечного изучения, запас в процессе фотосинтеза). В живом организме в течение жизни идет образование тепловой энергии. Образование первичной (основной ) теплоты- результат того, что все процессы в организме протекают с КПД меньше 100%. Вторичная теплота та, в которую превращается энергия всех процессов в организме. (Механическая работа сердца передвижение крови по сосудам - затрачивается на преодоление трения в сосудах и превращается в- теплоту. Следствиее 1-го закона термодинамики закон Гесса -тепловой эффект химического процесса, развивающего через ряд промежуточных стадий, не зависит от пути превращения, а определяется начальным и конечным состояниями химической. 2 закон термодинамики - все процессы превращения энергии протекают с рассеиванием части энергии в виде тепла. Это рассеивание энергии в виде тепла являетеся необратимым, то есть в последующем это количество тепла не может быть израсходованным для совершения работы. Термодинамические процессы : обратимые - переход системы в первоначальное состояние не требует дополнительной затраты энергии извне (маятник). Необратимые - если необходимы затраты энергии извне (тело). Необратимым процессом является диффузия, растворение вещества, процессы в технических механизмах. Обратимые процессы характеризуются переходом энергии в тепло, а необратимые протекают с рассеиванием части энергии в тепло. Возможность протекания термодинамических процессов, их направление и предел могут характеризовать параметры состояния системы: энтропия и свободная энергия. Энтропия - мера рассеивания деградации энергии, мера необратимости процесса. Внутренняя энергия системы равна сумме свободной энергий и связанной энергии. Свободная энергия - та часть внутренней энергии системы, которая может быть использована для совершении работы. Связанная энергия - та часть внутренней энергии, которая не используется для совершения работы, а рассеивается в виде тепла (определяется энтропией, если процессы идут при постоянной температуре). Все процессы в природе протекают в направлении уменьшения свободной энергии и увеличения энтропии. Процессы превращения энергии и совершения работы будут идти пока свободная энергия = нулю, а энтропия макс. - термодинамическое равновесие (система деградирована, не способна совершать работу). Отношение произведенной работы к изменению свободной энергии, израсходованной на эту работу, называется коэффициентом полезного действия - КПД. КПД обратимых процессов = 1, а необратимых - меньше 1. Возникновение градиента и поддержание его - это процесс совершения работы за счет энергии АТФ. Состояние системы, при котором параметры ее не изменяются со временем, но происходит обмен веществом и энергией с окружающей средой – стационарное (постоянство параметров - процессы протекают, но скорость и направление их постоянны и взаимноуравновешенны). Живой организм - открытую термодинамическую систему, в стационарном состоянии (гомеостаз). Стационарное состояние в термодинамике линейных процессов характеризуется принципом теоремы Пригожина: В стационарном состояний при фиксированных внешних параметрах скорость продукции энтропии в системе постоянна по времени и минимальна по величине. В открытой системе производство энтропии для необратимых процессов стремится к нулю. Принцип Ле - Шателье: при действии на систему сил, вызывающих нарушение равновесия, система переходит в состояние в котором эффект внешнего воздействия ослабляется. По Онзагеру в открытой системе каждый поток зависит от всех наличествующих и наоборот.

7. Молекулярные основы наследственности.

После того как было установлено, что гены находятся в хромосомах и расположены там в определенном порядке, возник вопрос об их химический природе. Ученым было известно, что в состав хромосом высших организмов входят ДНК и несколько типов гистоновых и негистоновых белков. До 40-х годов нашего столетия большинство ученых считали, что гены имеют белковую природу. Русский ученый Н. К. Кольцов высказал мысль, что хромосома это гигантская биологическая молекула, обладающая свойством самоудвоения, и что все свойства и признаки организма обусловлены строением белка и взаимодействием его молекул. Казалось вероятным, что именно в 6елках заключена наследственная информация о развитии всех признаков и свойств организма. Однако проведенные в последующем эксперименты на микроорганизмах с применением новейших методов исследований позволили установить, что генетическая информация сосредоточена в нуклеиновых кислотах. В 1944 году американский микробиолог Эвери из бактерий штамма S выделил ДНК и внес ее в питательную среду, на которой размножались бактерии авирулентного штамма R. Значительная часть авирулентных бескапсульных бактерий штамма R трансформировалась в капсульные вирулентные бактерии S -штамма. Это явление дало Эвери основание утверждать о ведущей роли ДНК в переносе наследственной информации от одного штамма бактерий к другому.

Другой эксперимент, подтверждающий роль ДНК в наследственности, провели американские ученые И. Чейз и Херши. Они размножали ДНК-содержащий вирус-бактериофаг на среде, содержащей радиоактивные фосфор и серу Р35 и S33. Радиоактивная сера включилась в серусодержащие белки оболочки фага, а радиоактивный фосфор - в ДНК. Далее мечеными радиоактивными изотопами фагами заражали бактерии. С помощью электронного микроскопа было установлено, что радиоактивная сера не проникала в клетку бактерии, внутри клетки был обнаружен только радиоактивный фосфор. Это свидетельствовало о том, что при заражении бактерии фагом внутрь клетки проникает только ДНК. В зараженной клетке образовалось множество вирионов фага. Следовательно, генетическая информация, необходимая для синтеза ДНК фагов, содержится в ДНК проникших в клетку вирусов. Доказательством ведущей роли ДНК в наследственности является и то, что она локализована главным образом в хромасомах, поэтому молекулярная генетика не противоречит хромосомной теории наследственности и законам классической генетики.

Строение и синтез ДНК.

В период с 1900 по 1932 год был выяснен химический состав ДНК. Было установлено, что в ее состав входят: остатки фосфорной кислоты,углеводный компонент,дезоксирибоза, четыре типа азотистых оснований, два производных пурина (аденин и гуанин) и два производных пиримидина (тимин и цитозин).

Э. Чаргафф установил,что в ДНК содержание аденина равно содержанию тимина (А=Т), а содержание гуанина равно содержанию цитозина (А=Ц). Отсюда: (А+Г) : (Т+Ц) = 1, т. е. сумма пуриновых нуклеотидов равна сумме пиримидиновых. Такая закономерность указывают на комплементарное соединение пуриновых и пиримидиновых оснований в молекуле ДНК. Приоритет в расшифровке структуры молекулы ДНК принадлежит Д. Уотсону и Ф. Крику. Согласно их модели, молекула ДНК имеет двойную спираль, состоящую из двух нуклеотидных цепей с общей осью. Диаметр двойной спирали ДНК равен 2 нм, а расстояние между витками 3,4 нм. На каждый виток спирали приходится 10 пар нуклеотидов, отсюда расстояние между азотистыми основаниями равно 0,34 нм. Каждая из цепей ДНК является полинуклеотидом и состоит из 4 типов нуклеотидов.

**Структура ДНК**

В состав нуклеотида входят:дезоксирибоза(Д),остаток фосфорной кислоты (Ф),одно из четырех азотистых оснований (А,Г,Ц и Т).

Соединение пуриновых и пиримидиновых оснований с дезоксирибозой приводит к образованию нуклеозида. При присоединении фосфорного остатка к углеводной части нуклеозида образуется нуклеотид. Дезоксирибоза в нуклеотидах соединяется с основаниями гликозидной связью, а с остатками фосфорной кислоты - эфирными связями. Азотистые основания нуклеотидов обоих цепей заключены внутри между витками спирали и соединены водородными связями. Причем аденин одной цепи всегда связан только с тимином другой цепи, а гуанин - только с цитозином. Пара А - Т соединена двумя водородными связями, а пара Г-Ц - тремя. Такой порядок азотистых оснований называется комплементарностью. Коэффициентом видовой специфичности называют отношение (А+Т): (Г+Ц).

**Репликация ДНК.**

ДНК является веществом, количество которого строго постоянно во всех клетках организма. ДНК находится в хромосомах, и репликация ее происходит перед каждым удвоением хромосом и делением клетки. На отдельных участках молекулы ДНК образуются так называемые вилки репликации. В этих местах водородные связи между азотистыми основаниями под действием ферментов разрываются, комплементарные нити разъединяются и каждая из них становится матрицей, на которой происходит синтез дочерних нитей. Такой тип репликации ДНК получил название полуконсервативного. Процесс синтеза протекает при участии комплекса ферментов, главнейшим из которых является ДНК-полимераза. Участок ДНК в том месте, где начали расплетаться комплементарные нити, называется вилкой репликации. Она образуется у прокариот в одной определенной, генетически фиксированной точке. В молекуле ДНК эукариот таких "стартовых точек" бывает несколько. Синтез новых комплементарных цепей при репликации ДНК происходит по частям. Эти отрезки, состоящие из 1000-2000 нуклеотидов, называют фрагментами Оказаки. Структура, способная к репликации (хромосома, плазмида, вирусный геном), называется репликоном. Репликация обеспечивает материальную непрерывность наследственного вещества клетки.

**Синтез ДНК**

Строение, синтез и типы РНК

Молекулы рибонуклеиновой кислоты имеют одну полинуклеотидную цепь. В состав молекулы РНК входят четыре типа азотистых оснований (аденин, гуанин, цитозин и урацил), сахар рибоза и остатки фосфорной кислоты. По составу от ДНК она отличается тем, что вместо дезоксирибозы содержит рибозу и вместо пуринового основания тимина - урацил. Схему строения молекулы РНК можно представить следующим образом? У где, А,Г,Ц,У - азотистые основания, Р - рибоза и Ф - остатки фосфорной кислоты. Синтез молекулы РНК происходит на одной из цепей молекулы ДНК. Этот процесс протекает с участием большого числа ферментов и называется транскрипцией. Причем двойная цепь ДНК раскручивается и на одной из ее цепей, которая называется смысловой синтезируется РНК. В организме существуют три основных типа РНК:информационная (и-РНК), или матричная (м-РНК),рибосомальная (р-РНК),транспортная (т-РНК).

**Типы РНК различаются по величине молекул и функциям.**

Информационная РНК. Роль информационной РНК заключается в том, что она переписывает информацию с молекулы ДНК и переносит ее к месту синтеза белка. В рибосомах и-РНК выполняет роль матрицы в процессе биосинтеза белка. Транспортные РНК выполняют функцию переноса аминокислот к месту синтеза белка. Молекула т-РНК напоминает форму клеверного листа. На конце одной цепи находится акцепторный участок - триплет ЦЦА, к которому прикрепляется аминокислота. В центре средней петли находится антикодон - триплет, состоящий из трех нуклеотидов комплементарных генетическому коду и - РНК. Рибосомальная РНК синтезируется в ядрышках, затем поступает в цитоплазму. Объединяясь с особыми белками, она образует рибосомы, в которых осуществляется биосинтез белков. Количество рибосомальной РНК составляет около 80 процентов.

Генетический код является триплетным. Кроме того, к свойствам генетического кода относят: триплетность вырожденность, неперекрываемость,универсальность.

Свойства генетического кода: триплетность, специфичность, вырожденность, универсальность

Вырожденность генетического кода заключается в том, что, как правило, одну аминокислоту кодируют не один, а несколько триплетов. В генетическом коде есть аминокислоты, кодируемые одним,двумя, тремя, четырьмя и шестью триплетами. Неперекрываемость генетического кода связана с тем, что каждый из нуклеотидов входит только в один из кодонов и считывание идет в одном направлении - триплет за триплетом. Генетический код универсален. Это значит, что у животных, растений, бактерий и вирусов одну и ту же аминокислоту кодируют одинаковые сочетания. Процесс реализации наследственной информации в биосинтезе белка осуществляется при участии трех видов РНК, ферментов, АТФ и других компонентов. Передачу наследственной информации с ДНК на белок можно представить следующим образом: ДНК → и-РНК → белок. Процесс биосинтеза сложный и включает ряд этапов:транскрипцию, сплайсинг, трансляцию.

Первый этап называется транскрипцией. Он происходит в ядре клетки. В результате транскрипции наследственная информация с ДНК переписывается на и-РНК. Этот процесс осуществляется при участии ряда ферментов, главным из которых является РНК-полимераза. Исследования показали, что в результате транскрипции синтезируется проматричная РНК, которая значительно больше по размеру и содержит фрагменты не несущие наследственной информации. Они получили название интронов в отличие от кодирующих фрагментов, которые называются экзонами. Интроны считываются с молекулы ДНК одновременно с экзонами, поэтому про-м-РНК значительно длиннее, чем зрелая м-РНК. В дальнейшем интроны "вырезаются" из молекулы РНК, а фрагменты экзонов "сращиваются" между собой в строгом порядке. Этот процесс называется сплайсингом. В процессе сплайсинга образуется зрелая м-РНК, которая содержит только ту информацию, которая необходима для синтеза белков.

Следующий этап биосинтеза - трансляция. Этот процесс происходит на рибосомах при участии т-РНК. Молекула и-РНК после сплайсинга через поры ядра выходит в цитоплазму и прикрепляется к рибосоме. Трансляция начинается с так называемого стартового кодона - АУТ. Активированные аминокислоты прикрепляются к т-РНК и переносятся к рибосомам. Здесь они в соответствии с генетическим кодом соединяются в полипептидную цепь. Молекула и-РНК обычно работает на нескольких рибосомах (5-20), соединенных в полисомы. Начало синтеза полипептидной цепи называется инициацией. Последовательность аминокислот в молекуле белка определяется последовательностью кодонов в и-РНК. Синтез полипептидной цепи прекращается, когда, на и-РНК появляется один из кодонов -терминаторов (УАА, УАГ или УГА).

Строение хромосом: хроматида, хромомеры, эухроматические и гетерохроматические районы хромосом.

Хромосомы состоят из двух хроматид, объединенных первичной перетяжкой. По положению центромеры хромосомы делятся на:метацентрические (равноплечие), субметацентрические (неравноплечие), акроцентрические (центромера лежит у одного из концов хромосомы, последняя представляет собой палочку с очень коротким или даже незаметным вторым плечом), телоцентрические - палочковидные хромосомы с центромерой, расположенной на проксимальном конце.

**Структура днк и рнк**

Хромомеры, по мнению одних исследователей, представляют собой плотно спирализованные участки, по мнению других - уплотнения нуклеопротеидного материала. Промежутки между хромомерами называются межхромомерными нитями.

Политения — редупликация хромонем в хромосомах, приводящая к увеличению числа хромонем без увеличения числа хромосом и без реорганизации ядра. Этот процесс, протекающий внутри хромосом, приводит к полиплоидизации количества.

Эухроматин, активный хроматин, участки хроматина (вещества хромосом), сохраняющие деспирализованное состояние элементарных дезоксирибонуклеопротеидных нитей (ДНП) в покоящемся ядре, т. е. в интерфазе. Эухроматин отличается от гетерохроматина также способностью к интенсивному синтезу рибонуклеиновой кислоты (РНК) и большим содержанием негистоновых белков.

Гетерохроматин, участки хромосом, остающиеся в промежутке между делениями клетки, т. е. в интерфазе, уплотненными (в отличие от др. участков — эухроматина). Гетерохроматин иногда тесно связан с ядрышком, образуя вокруг него подобие кольца или оболочки. Во время митоза Гетерохроматин окрашивается сильнее или слабее, чем эухроматин (явление положительного или отрицательного гетеропикноза).

Изменения в организации морфологии хромосом в ходе митоза и мейоза. Репликация хромосом. Политения. Онтогенетическая изменчивость хромосом. Хромосомы в период митоза и мейоза

При переходе клетки к делению синтез ДНК и РНК в хромосомах прекращается, хромосомы приобретают всё более плотную упаковку (например, в одной хромосоме человека цепочка ДНК длиной 160 мм укладывается в объёме всего 0,5´10 мкм), ядерная мембрана разрушается и хромосомы выстраиваются на экваторе клетки. Основная структурная единица метафазныххромасом, так же как и интерфазных, — нить ДНП диаметром 100—200, уложенная в плотную спираль. Каждая метафазная хромасома состоит из хроматид, образовавшихся в результате репликации исходной интерфазной хромосомы. Использование меченых и модифицированных предшественников ДНК позволило четко различать в хромосоме, находящейся в метафазе митоза, дифференциально окрашенные хроматиды, благодаря чему было установлено, что при репликации хромосом нередко происходит обмен участками между сестринскими хроматидами (кроссинговер). Современные цитологи рассматривают матрикс метафазных хромосом, как остаточный материал разрушающегося ядрышка; часто он вовсе не обнаруживается.

Политения — редупликация хромонем в хромосомах, приводящая к увеличению числа хромонем без увеличения числа хромосом и без реорганизации ядра. Этот процесс, протекающий внутри хромосом, приводит к полиплоидизации количества.

Хроматин - основной компонент клеточного ядра; его достаточно легко получить из выделенных интерфазных ядер и из выделенных митотических хромосом. Фракции хроматина, полученные из разных объектов, обладают довольно однообразным набором компонентов. Было найдено, что по суммарному химическому составу хроматин из интерфазных ядер мало отличается от хроматина из митотических хромосом. Главными компонентами хроматина являются ДНК и белки, среди которых основную массу составляют гистоны и негистоновые белки. В среднем в хроматине около 40% приходится на ДНК и около 60% - на белки, среди которых специфические ядерные белки-гистоны составляют от 40 до 80% от всех белков, входящих в состав выделенного хроматина. Кроме того, в состав хроматиновой фракциям входят мембранные компоненты, РНК, углеводы, липиды, гликопротеиды. В структурном отношении хроматин представляет собой нитчатые комплексные молекулы дезоксирибонуклеопротеида (ДНП), которые состоят из ДНК, ассоциированной с гистонами.

Различают четыре уровня организации ядерного хроматина. Первый - уровень нуклеосомной фибриллы. В нуклеосоме различают сердцевинную часть и линкерную область. Сердцевинная часть соответствует «бусинам», а линкерная - связывающему «бусины» участку базовой ДНК. Сердцевинная и линкерная области образуют полную нуклеосому. Размеры полной нуклеосомы могут варьироваться у разных видов. Второй уровень пространственной структуры хроматина - соленоид позволяет «сложить» ДНК с ее спутниками - белками еще более компактно. Соленоидная структура образуется в результате свертывания (на манер спирали) нуклеосомной нити и в одних местах носит более-менее регулярный характер, в других - неравномерный - здесь наблюдается как бы «сгущение» витков. Третий уровень организации (компактизации) ДНК в хроматине определяется укладкой соленоидной структуры в петли, опирающиеся, как полагают, на скелетные осевые образования хромосом. Длина петли - до 90 тысяч пар нуклеотидов. Материалом для скелетных нитей (для ядерного скелета) служат белки. Эти нити получили название «нуклеонемы». Четвертый уровень организации хроматина представлен хромосомами. Механизм формирования этих органелл еще не ясен. Но несомненно, что активация генов подразумевает глубокие изменения пространственных структур хромосом: налицо связь организации хроматина и регуляции работы генов. Кольцевые ДНК могут образовывать особую пространственную структуру - суперспираль. Суперспирализация опять же зависит от биохимии плазмы клетки.

8. Спонтанные и индуцированные мутации.

Спонтанные– это мутации, которые возникают самопроизвольно, без участия со стороны экспериментатора.

Индуцированные– это те мутации, которые вызваны искусственно, с использованием различных факторовмутагенеза.

Вообще, процесс образования мутаций называется мутагенезом,а факторы, вызывающие мутации, –мутагенами.

Мутагенные факторыподразделяются нафизические,химическиеибиологические.

Частота спонтанных мутацийодного гена составляет, для каждого гена каждого организма она своя.

Причины спонтанных мутацийне совсем ясны. Раньше считали, что их вызываетестественный фон ионизирующих излучений. Однако оказалось, что это не так. Например, у дрозофилы естественный радиационный фон вызывает не более 0,1% спонтанных мутаций.

С возрастомпоследствия от воздействия естественного радиационного фона могутнакапливаться, и у человека от 10 до 25% спонтанных мутаций связаны с этим.

Второй причинойспонтанных мутаций являютсяслучайные повреждения хромосом и геновво время деления клетки и репликации ДНК вследствиеслучайных ошибокв функционировании молекулярных механизмов.

Третьей причинойспонтанных мутаций являетсяперемещениепо геномумобильных элементов, которые могут внедриться в любой ген и вызвать в нем мутацию.

Американский генетик М. Грин показал, что около 80% мутаций, которые были открыты как спонтанные, возникли в результате перемещения мобильных элементов.

Индуцированнные мутации впервые обнаружили в 1925 г. Г.А. Надсон и Г.С. Филиппов в СССР. Они облучали рентгеновскими лучами культуры плесневых грибов Mucor genevensis и получили расщепление культуры «на две формы или расы, отличающиеся не только друг от друга, но и от исходной (нормальной) формы». Мутанты оказались стабильными, так как после восьми последовательных пересевов сохраняли приобретенные свойства. Их статья была опубликована только на русском языке, к тому же в работе не использовались какие-либо методы количественной оценки действия рентгеновских лучей, поэтому она осталась малозамеченной.

В 1927 г. Г. Мёллер сообщил о действии рентгеновских лучей на мутационный процесс у дрозофилы и предложил количественный метод учета рецессивных летальных мутаций в Х-хромосоме (ClB), который стал классическим.

В 1946 г. Мёллеру была присуждена Нобелевская премия за открытие радиационного мутагенеза. В настоящее время установлено, что практически все виды излучений (в том числе ионизирующая радиация всех видов – , , ; УФ-лучи, инфракрасные лучи) вызывают мутации. Их называют физическими мутагенами.

Основные механизмы их действия:

1) нарушение структуры генов и хромосом за счет прямого действия на молекулы ДНК и белков;

2) образование свободных радикалов, которые вступают в химическое взаимодействие с ДНК;

3) разрывы нитей веретена деления;

4) образование димеров (тиминовых).

В 30-х гг. был открыт химический мутагенез у дрозофилы: В. В. Сахаров (1932), М. Е. Лобашев и Ф. А. Смирнов (1934) показали, что некоторые соединения, такие как йод, уксусная кислота, аммиак, способны индуцировать рецессивные летальные мутации в Х-хромосоме.

В 1939 г. Сергей Михайлович Гершензон (ученик С.С. Четверикова) открыл сильный мутагенный эффект экзогенной ДНК у дрозофилы. Под влиянием идей Н.К. Кольцова о том, что хромосома является гигантской молекулой, С.М. Гершензон решил проверить свое предположение, что именно ДНК является такой молекулой. Он выделил ДНК из тимуса и добавил ее в корм личинкам дрозофилы. Среди 15 тыс. контрольных мух (т.е. без ДНК в корме) не было ни одной мутации, а в опыте среди 13 тыс. мух было обнаружено 13 мутантов.

В 1941 г. Шарлоттта Ауэрбах и Дж. Робсон показали, что азотистый иприт индуцирует мутации у дрозофилы. Результаты работы с этим боевым отравляющим веществом были опубликованы только в 1946 г., после окончания Второй мировой войны. В том же 1946 г. Рапопорт (Иосиф Абрамович) в СССР показал мутагенную активность формальдегида.

В настоящее время к химическим мутагенам относят:

а) природные органические и неорганические вещества;

б) продукты промышленной переработки природных соединений – угля, нефти;

в) синтетические вещества, ранее не встречавшиеся в природе (пестициды, инсектициды и т.д.);

г) некоторые метаболиты организма человека и животных.

Химические мутагены вызывают преимущественно генные мутации и действуют в период репликации ДНК.

Механизмы их действия:

1) модификация структуры оснований (гидроксилирование, дезаминирование, алкилирование);

2) замена азотистых оснований их аналогами;

3) ингибиция синтеза предшественников нуклеиновых кислот.

В последние годы используют так называемые супермутагены:

1) аналоги оснований;

2)соединения, алкилирующие ДНК (этилметансульфонат, метилметансульфонат и др.);

3) соединения, интеркалирующие между основаниями ДНК (акридины и их производные).

Супермутагены повышают частоту мутаций на 2-3 порядка.

К биологическим мутагенам относятся:

а) вирусы (краснухи, кори и др.);

б) невирусные инфекционные агенты (бактерии, риккетсии, простейшие, гельминты);

в) мобильные генетические элементы.

Механизмы их действия:

1) геномы вирусов и мобильных элементов встраиваются в ДНК клеток хозяина;

2) продукты жизнедеятельности паразитов – возбудителей болезней действуют как химические мутагены.

Индуцированный мутагенез, начиная с конца 20-х годов XX века, используют для селекции новых штаммов, пород и сортов. Наибольшие успехи достигнуты в селекции штаммов бактерий и грибков – продуцентов антибиотиков и других биологически активных веществ.

Так, удалось повысить активность продуцентов антибиотиков в 10-20 раз, что позволило значительно увеличить производство соответствующих антибиотиков и резко снизило их стоимость. Активность лучистого гриба – продуцента витамина В12 удалось повысить в 6 раз, а активность бактерии – продуцента аминокислоты лизина – в 300-400 раз.

Использование мутаций карликовости у пшеницы позволило в 60-70 годах резко увеличить урожай зерновых культур, что было названо «зеленой революцией». Пшеница карликовых сортов имеет укороченный толстый стебель, устойчивый к полеганию, он выдерживает повышенную нагрузку от более крупного колоса. Использование этих сортов позволило существенно увеличить урожаи (в некоторых странах в несколько раз).

Автором «зеленой революции» считают американского селекционера и генетика Н. Борлауга, который в 1944 г., в возрасте 30 лет, поселился и стал работать в Мексике. За успехи в выведении высокопродуктивных сортов растений в 1970 году ему была присуждена Нобелевская премия мира.

Для оценки генетической опасности химических соединений важно использовать, как и в радиобиологии, еще один количественный критерий – «относительную генетическую эффективность» (ОГЭ) разных классов веществ. Впервые ОГЭ рассчитал Эхлинг при сравнении доз ионизирующего излучения и концентраций химических мутагенов, вызывающих одинаковую частоту мутаций. По мнению исследователя, использование этого подхода для определения ОГЭ не зависит от величины пороговой дозы химического мутагена, и поэтому его генетическая опасность может быть скорее завышена.

Другой способ определения ОГЭ основан на использовании для сравнительной оценки веществ одного и того же класса одинакового способа воздействия и показателя мутагенного эффекта, что позволяет рассчитать ОГЭ одного соединения по отношению к другому.

Учет количества возникающих мутаций необходим:

при исследовании природы гена, его изменения,

для понимания механизма влияния внешних условий,

для понимания физиологического состояния организма на мутационный процесс.

Методы обнаружения мутаций должны быть разными в зависимости от особенностей объекта — главным образом способа размножения организма. Объективно регистрировать общее число возникающих мутаций пока практически невозможно. Однако подсчет мутаций в отдельных локусах и определенного типа мутаций вполне доступен. Некоторые видимые морфологические изменения можно учитывать довольно точно; несколько более сложным является определение физиологических и биохимических изменений у многоклеточных организмов. Легче всего обнаруживаются видимые доминантные мутации, которые могут проявляться в гетерозиготном состоянии в первом же поколении, труднее анализировать рецессивные мутации. Для того чтобы учитывать мутации, особенно рецессивные, возникшие как единичные изменения в хромосомах половых клеток, их необходимо переводить в гомозиготное состояние. Для дальнейшего анализа мутантную линию скрещивают с линией-анализатором, имеющей одну или несколько маркированных групп сцепления. Такой подход позволяет не только подтвердить ее наследование, но и сберечь время на анализ принадлежности мутации к соответствующей группе сцепления.

Для хорошо изученных в генетическом отношении объектов (дрозофила, кукуруза, ряд микроорганизмов) с установленными группами сцепления изучение новой мутации проводить довольно легко. Для этих объектов разработаны специальные методики учета частоты мутаций, возникающих в отдельных хромосомах. Так, например, для обнаружения видимых мутаций в половой хромосоме у дрозофилы используется методика сцепленных Х-хромосом — уу (двойной желтый). По данной схеме скрещивания можно обнаружить отдельные видимые рецессивные сцепленные с полом мутации, возникшие в Х-хромосоме половых клеток отцовского организма и проявляющиеся у мужского пола в F1.

Поскольку хромосомы обладают свойством репродуцироваться даже в измененном состоянии, различные изменения хромосом могут сохраняться в ряду клеточных делений и наследоваться.

Поэтому под генетическим эффектом ионизирующих излучений следует понимать любые изменения хромосом, связанные с возникновением мутаций. Обычно в большем количестве возникают летальные, семилетальные (понижающие жизнеспособность) и другие мутации, вызывающие гибель зигот.Такие мутации могут быть доминантными и рецессивными.

Если в сперматозоиде возникла мутация, то после слияния его с яйцеклеткой она перейдет в зиготу. Сравнивая количество отмирающих эмбрионов в потомстве облученных родителей с таковым в потомстве необлученных, можно установить частоту возникновения доминантных леталей, вызванных облучением половых клеток у родителей.

Рецессивные летальные мутации можно обнаружить лишь в последующих поколениях F2 и F3, т. е. после того, как они перейдут в гомозиготное состояние. Такой учет летальных мутаций прост и позволяет производить объективную количественную оценку частоты их возникновения.

На оснований количественного учета мутаций была установлена зависимость частоты их возникновения от дозы облучения. Многочисленные опыты с дрозофилой, кукурузой, ячменем и другими объектами позволили сделать вывод, что число точковых мутаций (n) возрастает прямо пропорционально дозе ионизирующего излучения (D).

Линейная зависимость частоты возникновения мутаций от дозы облучения навела на мысль о том, что мутация гена является следствием мономолекулярного акта, т. е. отдельной ионизации. Поэтому дальнейшие исследования сосредоточились в направлении изучения роли различных физических сторон действия ионизации на мутационный процесс, а именно:влияния мощности (интенсивности) излучения — величины дозы в единицу времени,влияния плотности ионизации и возможности специфичного действия различных ионизирующих излучений.

Интересно отметить, что равные дозы ионизирующих излучений, различающиеся по интенсивности в 10 000 и даже 100 000 раз, вызывают мутации с одинаковой частотой.

При действии на хромосомы ионизирующих излучений возникает большое количество хромосомных перестроек. Оказалось, что летальные мутации в большинстве своем связаны с хромосомными перестройками, которые можно обнаруживать генетическими и цитологическими методами.

Необходимо подчеркнуть, что действие ионизирующих излучений на возникновение хромосомных перестроек сначала было обнаружено генетическими методами. Впоследствии этот эффект был подтвержден цитологическими методами на хромосомах соматических клеток корешков растений, эмбриональных тканей и костного мозга животных и человека, а также, на гигантских хромосомах слюнных желез дрозофилы.

Итак, все виды ионизирующих излучений вызывают глубокие изменения хромосом, которые благодаря репродукции воспроизводятся в митозе и могут сохраняться в ряду последующих клеточных делений.

Радиопротекторы (синоним радиозащитные препараты) — это химические соединения, применяемые для ослабления вредного действия ионизирующей радиации на организм. Радиопротекторы используются лишь с целью профилактики и облегчают течение лучевой болезни. Введение радиопротекторов после облучения оказывается неэффективным. Условно радиопротекторы можно разбить на две группы:радиопротекторы кратковременного, одномоментного действия, которые вводят в организм за короткий промежуток времени до облучения,радиопротекторы пролонгированного действия, которые вводят многократно, обычно небольшими дозами до лучевого воздействия.

К радиопротекторам первой группы относят большинство известных радиозащитных соединений: например, различные аминотиолы (меркамин, пропамин, аминоэтилизотиоуроний и др.), аминокислотуцистеин, цистамин, некоторые биогенные амины, не содержащие сульфгидрильных групп, цианофоры, аминофеноны, некоторые спирты, отдельные представители углеводов и др.

Представление о радиопротекторах как химических соединениях, защищающих «критические» молекулы клеток. Гипотеза предполагает, что в результате химических реакций серосодержащие радиопротекторы реагируют с сульфгидрильными группами биологически важных молекул и тем самым «прикрывают» их от действия ионизирующей радиации.

Представление о радиопротекторах как соединениях, повышающих радиоустойчивость биохимических систем. Эта гипотеза основывается на том, что абсолютное большинство радиопротекторов одномоментного действия оказывает радиозащитный эффект только в том случае, если их вводят в субтоксических дозах. При этом тормозятся различные радиочувствительные биохимические системы, например биосинтез ДНК, окислительное фосфорилированиев микроструктурах клеток, образование макроэргических соединений в ядре клетки и т. д. Механизм временного торможения биохимических систем в свою очередь основывается на способности радиопротекторов вступать в химические связи с молекулами ферментов. Существенную роль при этом играет временное образование смешанно-дисульфидной связи между радиопротекторами и содержащими сульфгидрильную группу молекулами белков-ферментов.

Важное практическое применение генетического действия ионизации — радиационная селекция, т. е. отбор хозяйственно-ценных мутаций, получаемых главным образом у культурных растений и промышленных микроорганизмов в результате их облучения. Выведенные таким способом новые сорта овса, ячменя, гороха, арахиса, плодовых и декоративных культур и др. уже занимают большие посевные площади. Многие высокопродуктивные промышленные штаммы микроорганизмов — продуцентов антибиотиков, витаминов, аминокислот — также получены путём радиационного мутагенеза.

Методом введения большого числа точковых мутаций разной локализации в исследуемые части генов in vitro является химический мутагенез одноцепочечных участков рекомбинантных ДНК. Принцип метода заключается в том, что некоторые химические мутагены, такие как бисульфит натрия, гидроксиламин или метоксиламин, действуют только на одноцепочечные участки ДНК. Следовательно, получив молекулы ДНК, содержащие одноцепочечные бреши в исследуемых участках генов, можно с помощью бисульфита натрия дезаминировать остатки цитозина в этих участках, т.е. превратить их в остатки урацила.

Ионизирующее излучение (рентгеновское) проникая в ткани, разрывают химические связи, приводя к хромосомным перестройкам, разрывам или точковым мутациям. Неионизирующее излучение (УФ) вызывает фотохимические изменения в структуре ДНК. Это приводит к образованию ненормальных химических связей между молекулами пиримидинов.

9. Репарация ДНК: типы повреждений ДНК и пути их устранения (прямая реактивация, эксцизионная и индуцируемая репарация).

Репарация — особая функция клеток, заключающаяся в способности исправлять химические повреждения и разрывы в молекулах ДНК, повреждённых при нормальном биосинтезе ДНК в клетке или в результате воздействия физических или химических реагентов. Осуществляется специальными ферментными системами клетки.

Каждая из систем репарации включает следующие компоненты:

ДНК-хеликаза — фермент, «узнающий» химически изменённые участки в цепи и осуществляющий разрыв цепи вблизи от повреждения;

ДНКаза (дезоксирибонуклеаза) — фермент, "разрезающий" 1 цепочку ДНК по фосфодиэфирной связи и удаляющий повреждённый участок: экзонуклеаза работает на концевые нуклеотиды 3` или 5`, эндонуклеаза - на нуклеотиды, отличные от концевых;

ДНК-полимераза — фермент, синтезирующий соответствующий участок цепи ДНК взамен удалённого;

ДНК-лигаза — фермент, замыкающий последнюю связь в полимерной цепи и тем самым восстанавливающий её непрерывность.

Прямая репарация — наиболее простой и быстрый вариант для клетки устранить дефект за одну стадию. Однако с помощью реакций этого типа может быть исправлено небольшое число повреждений. К реакциям прямой репарации относятся фотореактивация пиримидиновых димеров, репарация АР-сайтов прямой вставкой пуринов и прямая репарация однонитевых разрывов ДНК [6]. Фотореактивация пиримидиновых димеров реализуется за счёт группы ферментов ДНК-фотолиаз. Фотолиазы активируются светом, с длиной волны 300–600 нм (видимая область). Фермент связывается с поврежденным участком. Затем после активации фотолиазы видимым светом происходит разрыв связей, возникших между пиримидиновыми кольцами ДНК. Фотолиазы были найдены у бактерий, дрожжей, мушки дрозофилы, некоторых видов иглокожих. Наличие фотолиаз у высших млекопитающих, включая человека, пока не доказано. Репарация АР-сайтов прямой вставкой пуринов реализуется при участии фермента ДНК-инсертаза [4]. Инсертаза комплементарно присоединяет основание к дезоксирибозе и структура ДНК приобретает исходный вид. При этом типе репарации нет необходимости в разрезании цепи ДНК, вырезать неправильный нуклеотид и репарировать разрыв, однако данный механизм работает медленно и таким образом может быть исправлено небольшое число поломок. Прямая репарация однонитевых разрывов ДНК осуществляется за счёт работы одного фермента — ДНК-лигазы. Данная группа ферментов катализирует ковалентное сшивание цепей ДНК в дуплексе при репликации, репарации и рекомбинации. Они образуют фосфодиэфирные мостики между 5'-фосфорильной и 3'-гидроксильной группами соседних дезоксинуклеотидов в местах разрыва ДНК. Реакция протекает с затратой энергии АТФ. Помимо прямой репарации, ДНК-лигазы играют важную роль в механизмах эксцизионной репарации.

Эксцизионная репарация — более сложный механизм восстановления структуры ДНК, при котором поврежденные участки извлекаются из цепи ДНК; при этом могут удаляться даже соседние с повреждёнными участками нуклеотиды. В образовавшийся промежуток вставляется недостающий участок. Для эксцизионной репарации необходима комплементарная цепь ДНК [9]. Несмотря на разнообразие типов эксцизионной репарации и белков, участвующих в ней, можно выделить общие этапы: 1) распознавание повреждения с помощью ДНК-гликозилазы [5]; 2) разрезание нити ДНК с помощью эндонуклеаз; 3) удаление повреждённого участка посредством различных экзонуклеаз; 4) репаративный синтез на неповрежденной матрице при участии ДНК-полимераз. Для Е.coli был описан особый вид репарации — SOS-репарация [1]. Это целая система белков, активирующихся при угрозе гибели клетки. Система несовершенна, так как происходит вставка некомплементарных нуклеотидов. Однако этот механизм необходим для осуществления митоза и проведения репликации даже при значительных повреждениях ДНК. В части процессов репарации в клетке также участвует и рекомбинация. Этот механизм восстановления ДНК является приоритетным при возникновении двунитевых разрывов и из-за обширности требует более детального рассмотрения. У млекопитающих найдено несколько различных видов ДНК-лигаз [8]: – ДНК-лигаза I связывает фрагменты Оказаки в ходе репликации ДНК и вносит свою лепту в реакции эксцизионной репарации. – ДНК-лигаза II — недостаточно изучена; имеются две теории образования этого фермента, связанные с лигазой III и альтернативным сплайсингом. – ДНК-лигаза III также задействована в реакциях эксцизионной репарации и в рекомбинации. – ДНК-лигаза IV — катализатор для конечного этапа non-homologous end joining — NHEJ двухнитевых разрывов ДНК. Также это тип ферментов принимает участие в рекомбинации генов иммуноглобулинов. Основные структуры, осуществляющие репарацию — это различные группы ферментов. У разных биологических видов обнаружены разные типы ферментов в пределах одной группы. Некоторые ферменты образуют большие комплексы с различными видами ферментной активности. Как мы видим, все разнообразие механизмов связано с огромным множеством ферментов, вносящих свой вклад в реакции репарации. С учетом развития молекулярной диагностики и генной терапии более детальное изучение механизмов репарации ДНК и структур, участвующих в них, является весьма приоритетным и многообещающим как для научного обоснования этиологии различных генетических [3] и онкологических заболеваний [2], так и для практического применения в качестве мишеней для лекарственных препаратов.

SOS-репарация. М. Радман (1974) и Э. Виткин (1975) первыми указали на возможную взаимосвязь нескольких феноменов, наблюдаемых в УФ-облученных клетках E. coli. К ним относятся: 1) индукция профага  - процесс, требующий инактивации репрессора; 2) феномен W-реактивации, открытый Дж. Вейглем (1953) и выражающийся в повышении выживаемости и мутабильности УФ-облученного фага  при заражении им предварительно облученных клеток E. coli по сравнению с выживаемостью фага в необлученных клетках; 3) образование длинных нитей (филаментов) неразделившихся бактерий вследствие блокирования нормального процесса клеточного деления в облученных клетках; 4) выключение клеточного дыхания; 5) индукция мутагенеза, и ряд других.

Способность клетки реагировать на повреждения ДНК или прекращение ее синтеза путем активации группы генов, контролирующих перечисленные выше феномены, получила название SOS-ответа. Одна из форм SOS-ответа - SOS-репарация ДНК. Помимо УФ-облучения сигналами на включение SOS-репарации могут служить и другие воздействия, повреждающие ДНК.

В случае УФ-облучения индукция SOS-репарации у E. coli происходит тогда, когда в геноме находится не менее 30-60 невырезанных димеров. Возникающая задержка репликации, по-видимому, активирует группу генов, продукты которых обеспечивают SOS-репарацию ДНК. Ее характерная черта - неточность восстановления первичной структуры ДНК, поэтому такой тип репарации называют “склонной к ошибкам” в отличие от относительно безошибочной эксцизионной репарации.

По мнению ряда исследователей, в основе SOS-репарации лежит индукция новой или модификация одной из предсуществующих ДНК-полимераз, обеспечивающих возможность “трансдимерного” синтеза ДНК, в результате которого напротив димера будет находиться не брешь, а какой-то нуклеотид. Такая произвольная подстановка нуклеотида во вновь образующуюся нить может привести к мутации. Прямые доказательства этой гипотезы отсутствуют, однако существование мутагенной репарации выявлено у фага Т4 и грибов, различных видов дрожжей, у D. melanogaster. Обнаружена она и у млекопитающих, для которых установлено, что пострепликативные бреши действительно могут заполняться за счет синтеза ДНК, а не в результате рекомбинации. Примечательно, что в отличие от конститутивной безошибочной эксцизионной репарации SOS-репарация сопряжена с синтезом белка de novo и происходит в богатой питательной среде. Это соответствует условиям, ведущим к фиксации мутаций в УФ-облученных клетках E. coli.

Общее свойство всех SOS-ответов у E. coli - их абсолютная зависимость от активности генов recA и lexA. Первый из них кодирует синтез белка-индуктора SOS-системы, второй - белка-репрессора гена recA и ряда других генов, кодирующих SOS-функции. Продукт гена recA - RecA-белок- полипептид (Мr 37 842), обладающий несколькими формами ферментативной активности. Главная для регуляции SOS-ответа - протеолитическая: RecA расщепляет или стимулирует аутопереваривание белка LexA и репрессоров генов ряда SOS-функций, например репрессора фага , поддерживающего его в состоянии профага. Помимо протеазной активности RecA-белок обладает еще и АТФ-азной и хеликазной формами активности, важными для его участия в процессах рекомбинации и рекомбинационной ПРР ДНК. При отсутствии индуцирующих воздействий исходный сравнительно низкий уровень белка RecA в клетках E. coli составляет 800-1200 молекул на клетку. Однако в условиях индукции SOS-системы синтез белка RecA резко усиливается и может достигнуть 30% от общего содержания белка в клетке. Другой важнейший для функционирования SOS-системы ген - lexA, - кодирует белок с Мr 22 700.

Ключевую роль в регуляции SOS-системы играет взаимодействие белков RecA и LexA. В интактной клетке исходный уровень белка RecA обеспечивает рекомбинацию, но его недостаточно для индукции SOS-функций. В неповрежденной клетке возможность избыточной продукции белка RecA подавлена (репрессирована) белком LexA. Повреждения ДНК активируют RecA-протеазу, переваривающую LexA-репрессор. Это, в свою очередь, приводит к индукции других генов SOS-системы, репрессоры которых также расщепляются белком RecA. По мере того как количество молекул RecA-протеазы исчерпывается, вновь синтезируется интактный LexA-репрессор и вся SOS-система выключается. Из этой модели следует, что SOS-система является саморегулирующейся, причем белок RecA ее позитивный, а белок LexA - негативный регулятор. Таким образом, SOS-ответ клетки складывается из следующих этапов: индуцирующий сигнал, синтез RecA-белка и его активация, разрушение репрессоров и индукция SOS-функций.

По мере репарации ДНК факторы, индуцирующие SOS-ответ, элиминируются и в течение 30-60 мин после индуцирующего воздействия RecA-протеаза инактивируется. Синтез белка LexA, однако, продолжается и, так как теперь ничто не мешает его функционированию, происходит репрессия генов SOS-системы. Клетка возвращается в неиндуцированное состояние.

Из почти 20 генов, контролирующих SOS-функции клетки у E. coli, для мутагенеза существенны лишь гены recA, lexA и состоящий из двух генов оперон umuDC. Мутации в любом из генов этого оперона подавляют мутагенез, индуцированный УФ-лучами, метилметансульфонатом и другими видами воздействия. В случае повреждения ДНК RecA-протеаза расщепляет репрессор оперона umuDC и последний начинает функционировать. Предполагается, что продукты, кодируемые генами umuDC, каким-то образом модифицируют клеточные ДНК-полимеразы, в результате чего они осуществляют синтез ДНК в обход димеров пиримидина.

Адаптивный ответ. Помимо SOS-репарации в клетках E. coli действует еще один путь индуцируемой репарации ДНК, называемый адаптивным ответом на действие алкилирующих агентов. В отличие от SOS-репарации адаптивный ответ recA - независим. Адаптивный ответ наблюдается в случае, если клетки до обработки основной, большой, дозой алкилирующих агентов (например, нитрозогуанидина либо N-метил-N-нитрозомочевины) подвергаются воздействию очень низких, нелетальных доз тех же соединений. Предобработка бактерий низкими дозами алкилирующих агентов обусловливает индукцию ферментов репарации, специфично действующих на алкилирование ДНК. Один из этих ферментов - индуцируемая О6-метилгуанин-ДНК-метилтрансфераза - переносит метильную группу с О6-метилгуанина (основного предмутационного повреждения в алкилированной ДНК) на остаток цистеина, входящий в состав самого фермента, и тем самым непосредственно исправляет повреждение ДНК. Другой фермент - индуцируемая ДНК-гликозилаза - удаляет ряд потенциально летальных повреждений в ДНК, включая 3-метиладенин, 3-метилгуанин и др.

Системы индуцируемой репарации ДНК действуют не только у прокариот, но и эукариот. Так, гены, функционально близкие к генам, контролирующим SOS-функции у E. coli, обнаружены у дрожжей. Индукция ферментов, приводящих к снижению мутагенного эффекта и увеличению выживаемости в случае предобработки малыми дозами алкилирующих агентов, описана у крыс. У млекопитающих известны и другие индуцируемые ферменты, связанные с повреждениями ДНК. Однако обнаружить индуцируемую систему репарации ДНК, приводящей к увеличению клеточного мутагенеза у млекопитающих, пока не удалось.

10. Оперонная система организации бактериальных генов. Модель Жакоба-Моно.

Этот тип регуляции был открыт благодаря исследованиям Ф. Жакоба и Ж. Моно, которые пытались выяснить, каким образом бактериальные клетки реагируют на изменение условий окружающей среды. В частности, изучался синтез фермента а-галактозидазы у бактерий E. coli. Если бактерии E. coli выращивать на среде с глюкозой, то а-галактозидаза не синтезируется. Если клетки перенести в среду с лактозой, то содержание фермента а-галактозидазы, участвующего в расщеплении лактозы, увеличивается в 1000 раз. Такая активация транскрипции называется индукцией. Одновременно с а-галактозидазой индуцируется синтез еще двух ферментов: а-галактозидпермеазы, обеспечивающей транспорт лактозы внутрь клетки через цитоплазматическую мембрану, и а-галактозидтрансацетилазы. Установлено, что дефект в любом из трех генов, ответственных за синтез одного из этих ферментов, приводит к неспособности утилизировать лактозу.

Опероном называют группу функционально связанных между собой генов. Белки, кодируемые генами одного оперона, – это, как правило, ферменты, катализирующие разные этапы одного метаболического пути. Транскрипция генов оперона ведет к синтезу одной общей молекулы иРНК.

Lac-оперон состоит из кодирующей области, представленной тремя структурными генами, ответственными за синтез ферментов; а также из промоторно-операторной области. Оператор представляет собой небольшой участок ДНК, граничащий с первым структурным геном. С оператором может связываться белок-репрессор, блокируя инициацию (начало) транскрипции. Промотор – это небольшой участок ДНК перед оператором. Он служит местом связывания ДНК-зависимой РНК-полимеразы (транскриптазы) и от него начинается транскрипция ДНК. Оператор и промотор в некоторой степени перекрываются.

Транскрипционная активность входящих в оперон генов регулируется специальным геном-регулятором, или регуляторным геном (ген R), который может располагаться рядом со структурными генами или на некотором расстоянии от них. Ген R кодирует синтез специфического белка-репрессора. Репрессор – аллостерический белок, имеющий два центра связывания: один центр узнает оператор, другой – взаимодействует с эффектором или индуктором.

Различают опероны индуцибельные и репрессибельные. Индуцибельные опероны ответственны за катаболизм лактозы, арабинозы, галактозы и других углеводов. В основе индукции синтеза ферментов лактозного оперона лежит механизм негативной, или отрицательной, регуляции. В отсутствие лактозы молекула репрессора, активная в свободном состоянии, связывается с оператором, закрывая при этом промотор, что препятствует связыванию с ним РНК-полимеразы и началу транскрипции структурных генов. При наличии в среде внешнего индуктора лактоза транспортируется с помощью а-галактозидпермеазы внутрь клетки и с помощью фермента а-галактозидазы превращается в аллолактозу, которая действует как внутренний индуктор. Аллолактоза связывается с репрессором, который при этом претерпевает конформационное изменение, уменьшающее его сродство к ДНК оператора, и в результате репрессор отсоединяется от lac-оператора.

Лактозный оперон подвержен также регуляции другого типа – позитивной, или положительной. Дело в том, что РНК-полимераза может связаться с промотором лишь тогда, когда к нему присоединен регуляторный белок БАК (белок, активирующий катаболизм), или САР (catabolite activator protein). Однако БАК может связаться с промотором только в том случае, если в клетке в достаточно высокой концентрации присутствует циклический аденозинмонофосфат (цАМФ). Это было установлено с использованием феномена диауксического роста (или диауксии) – при наличии в среде глюкозы и лактозы клетки бактерий вначале используют глюкозу, а затем после ее полного израсходования начинают катаболизировать лактозу. Оказалось, что глюкоза репрессирует синтез а-галактозидазы. При наличии в среде глюкозы в клетке резко снижается количество цАМФ. Это явление называют катаболитной репрессией. Оно наблюдается и в тех случаях, когда вместо лактозы используется какой-то другой углевод.

Кроме индуцибельных оперонов, управляющих катаболизмом углеводов, у бактерий имеются и репрессибельные опероны. Это опероны, ответственные за синтез аминокислот аргинина, гистидина и триптофана. Максимальная транскрипция структурных генов этих оперонов достигается только при отсутствии в клетке конечных продуктов или эффекторов этих биосинтетических путей. Такие эффекторы, которыми являются конечные продукты, называют корепрессорами, а соответствующие регуляторные белки – апорепрессорами. Синтез ферментов репрессибельного оперона включается посредством дерепрессии структурных генов.

Разберем строение триптофанового оперона E. coli. Он состоит их пяти структурных генов, ответственных за синтез пяти ферментов, участвующих в превращении хоризмовой кислоты в триптофан, а также из промоторно-операторной области. Ген-регулятор (trрR) расположен на хромосоме на некотором расстоянии от оперона. Он ответственен за синтез регуляторного белка – апорепрессора, который неактивен в свободном состоянии, не может связываться с оператором и неспособен, таким образом, препятствовать началу транскрипции.

Когда конечный продукт метаболического пути – триптофан – накапливается выше определенного уровня, взаимодействует с апорепрессором и активирует его. Активированный апорепрессор (апорепрессор + корепрессор) присоединяется к оператору и подавляет транскрипцию структурных генов триптофанового оперона. Синтез триптофана прекращается.

Отсутствие активированного репрессора вызывает примерно 70-кратное увеличение актов инициации транскрипции. Для того чтобы понизить уровень транскрипции в присутствии триптофана в еще большей степени, в клетках бактерий E. coli имеется дополнительный механизм регуляции транскрипции, который называется аттенуацией, в осуществлении его принимает участие продукт гена trpL. В условиях избытка триптофана только одна из десяти молекул РНК-полимеразы, начавшая транскрибирование с промотора, взаимодействует со структурными генами и продолжает транскрипцию. Таким образом, действие аттенуатора проявляется в терминации транскрипции, а сам процесс аттенуации классифицируется как регулируемая терминация транскрипции.

Аттенуация зависит не от самой аминокислоты, а от образования триптофанил-тРНК, т. е. активи рованной аминокислоты, присоединенной к транспортной РНК. При уменьшении внутриклеточной концентрации триптофана сначала осуществляется дерепрессия. Это значит, что образуется возможность связывания молекул РНК-полимеразы с промотором Trp-оперона. При более глубоком голодании снижается уровень триптофанил-тРНК и возникают условия для преодоления аттенуатора.

Таким образом, и в случае индукции путем негативной регуляции (Lac-оперон), и в случае репрессии синтеза ферментов (Тrp-оперон) взаимодействие репрессора с оператором приводит к подавлению транскрипции соответствующих структурных генов. Различие заключается в том, что при индукции путем негативной регуляции эффектор (индуктор), взаимодействуя с репрессором, понижает сродство репрессора к оператору, а в случае репрессии эффектор (корепрессор) повышает это сродство.

11.пределение нуклеотидной последовательности ДНК (метод Сенгера и метод Максама-Гилберта).

Первым методом прямого ферментативного секвенирования ДНК стал метод, предложенный Ф. Сэнгером и Д. Коулсоном в 1975 г. В качестве матрицы в реакции полимеразного копирования использовался одноцепочечный фрагмент ДНК, в качестве праймеров - синтетические олигонуклеотиды или природные субфрагменты, получаемые при гидролизе рестрицирующими эндонуклеазами, а в качестве фермента - фрагмент Кленова ДНК полимеразы I (PolI) из E.coli. Метод включал два этапа. Сначала в ограниченных условиях проводили полимеразную реакцию в присутствии всех четырех типов dNTP (один из них был мечен по альфа-положению фосфата), получая на выходе набор продуктов неполного копирования матричного фрагмента. Смесь очищали от несвязавшихся дезоксинуклеозидтрифосфатов и делили на восемь частей. После чего в "плюс" системе проводили четыре реакции в присутствии каждого из четырех типов нуклеотидов, а в "минус" системе - в отсутствие каждого из них. В результате, в "минус" системе терминация происходила перед dNTP данного типа, а в "плюс" системе - после него. Полученные таким образом восемь образцов разделяли с помощью электрофореза, "считывали" сигнал и определяли последовательность исходной ДНК. Этим способом была секвенирована короткая ДНК фага фХ174, состоящая из 5386 нуклеотидных пар.

12. Аминокислоты. Общая характеристика, классификация. Заменимые и незаменимые аминокислоты. Физико-химические свойства аминокислот.

АК – органические, бифункциональные соединения, содержащие 2 функциональные группы – карбоксильная и амино-группа. А/к явл. структурными элементами белков. Классификация: Электрохимическая:

1. нейтральные (1 кислотная гр. и 1 основная гр. Аланин-CH3-CH(NH2)-COOH )

2. кислые. (кислотн. гр.> осн. гр. аспаргиновая кислота-HOOC-CH2-CH(NH2)-COOH )

3. основные. (Лизин) H2N-(CH2)-CH(NH2)-COOH

Структурная: алифатические, циклические (гомо- и гетеро-). В ряду алифатических а/к различают α,β,γ… в зависимости от удаленности аминогруппы от карбоксила.

Биологическая: 1. незаменимые(вал, лей, илей, тре, мет, фен, три, лиз).2. частично заменимые. Скорость их синтеза низка (Гис, арг.) 3. условно заменимые. Синтезируются из заменимых (цис из мет, тирозин из фен.). 4. Заменимые (ала, асп, глу, пролин, гли, сер.).

Растворимость - хорошо растворяются в полимерных растворителях (этанол, вода) и не растворяются в неполярных (бензол, гексан, эфир). При 250-300°С разлагаются.

Твердые, без цвета и запаха, сладкие.

Амфотерность – действуют как кислоты и основания (СООН и NH2 гр.)

Обладают оптической активностью: + и -. Встречаются в живых организмах и те и другие. Аминокислоты могут существовать в виде пары энантиомеров D и L (расположение Н и ОН у хирального центра). Чаще в природе встречается L-форма.

Состояние а/к в котором она не чувствительна к электрическому полю называется изоэлектрическим, а значение рН среды, при котором это состояние реализуется – называется изоэлектрической точкой.

Химические реакции аминокислот:

Реакция с нингидрином используется для кач-ого определения а/к. Ход реакции: 1) образуется восстановленный нингидрин за счет окислительного дезаминирования а/к, одновременно происходит её декарбоксилирование. 2) образовавшийся NH3 реагирует с восстановленным нингидрином с образованием сине-фиолетовых продуктов.

Декарбоксилирование – образуются амины, Дезаминирование, Алкилирование (метилирование – перенос на а/к СН3 гр.), Ацетелирование – перенос на а/к ацетильной гр СН3СО, Со спиртами образуют эфиры, Образование амидов,

Важнейшее свойство а/к – взаимодействие друг с другом с образованием пептидов(поликонденсация)

Кислотные свойства а/к проявляются в реакциях с металлами, оксидами металла, основаниями, в реакциях этерификации (со спиртом); в этих реакциях взаимодейятвие идет по карбоксильной группе с отщеплением водорода.

Свойства а/к как основания проявляются при реакции с кислотами.

13. Строение белковой молекулы (первичная, вторичная, третичная, четвертичная структуры). Основные функции белков.

*Белки*– это высокомолекулярные азотсодержащие  органические соединения, состоящие из остатков аминокислот, соединенных пептидными связями. Иными словами белки – это полимеры, мономерами которых являются аминокислоты. Белки построены из сотен или тысяч аминокислотных остатков, соединенных пептидными связями. Разнообразие существующих в природе белков зависит от особенностей аминокислотного состава, количества аминокислотных остатков и порядка их сочетания.

**Первичная структура** - линейная полипептидная цепь из аминокислот, соединенных между собой пептидными связями. Первичная структура - простейший уровень структурной организации белковой молекулы. Высокую стабильность ей придают ковалентные пептидные связи между α-аминогруппой одной аминокислоты и α-карбоксильной группой другой аминокислоты

**Вторичная структура** - способ укладки полипептидной цепи в упорядоченную форму за счет системы водородных связей. Полипептидная цепь самопроизвольно скручивается и приобретает более энергетически выгодную форму. Вторичная структура белков имеет две основные разновидности:

α–спираль.Каждая пептидная группа участвует в образовании 2-х водородных связей.

β – складчатый слой. При образовании этой структуры несколько полипептидных цепей, не сворачиваясь в α-спираль, связываются межцепочечными водородными связями. При взаимодействии между собой вторичных структур может образовываться сверхвторичная структура (суперспираль). Например, суперспирализованная α-спираль встречается в фибриллярных белках.

**Третичная структура** – глобула, характерна для глобулярных белков. На третичном уровне организации возникает активный центр и белок приобретает функциональную активность.

Связи, стабилизирующие третичную структуру: дисульфидная, ионная, водородная, изопептидная, гидрофобное взаимодействие. У глобулы полярные радикалы в гидратированном состоянии находятся снаружи, гидрофобные радикалы внутри. В пределах глобулы часто выделяют домены – участки полипептидной цепи, которые самостоятельно от других участков той же цепи образуют структуру, во многом напоминающую глобулярный белок. В пределах одной полипептидной цепи может встречаться несколько доменов.

**Четвертичная структура** - характерна только для олигомерных белков (олигомерные белки – белки, состоящие из нескольких полипептидных цепей). Четвертичная структура – характерный способ расположения протомеров олигомерного белка. Активный центр возникает при объединении протомеров.

**Функции белков:** Строительная - Из белков состоят мембраны клеток и клет. Органоидов, стенки кровеносных сосудов, сухожилия. хрящи. Каталитическая –ферменты. Сигнальная – в поверхностную мембрану клетки встроены молекулы белков, способных изменять свою третичную структуру в ответ на действие факторов внешней среды. Двигательная – выполняют особые сократительные белки. Транспортная – способны присоединять различные вещества и переносить их из одного места клетки в другое. Защитная - при введении чужеродных белков или клеток в организм в нем происходит выработка особых белков. Энергетическая. Белки распадаться в клетке до а/к. Самосборка - способность белковых молекул к спонтанному и упорядоченному ассоциированию друг с другом и с другими полимерами, что приводит к образованию биоактивных структур (ферментные комплексы мембраны, рибосомы). Конформация белка – расположение белковой молекулы в пространстве.

***Классификация и характеристика основных групп белков.***

До сих пор не существует единой, строго научной классификации белков, с помощью которой можно было бы их систематизировать. Поэтому используется несколько разных классификаций.

По составу белки делят на:

Простые – белки, состоящие только из аминокислот и при гидролизе распадающиеся соответственно только на аминокислоты. По характеру растворимости эти белки можно разделить на следующие группы:

1. Альбумины – белки, растворимые в воде. Альбумины легко высаливаются из водных растворов с помощью солей. Они широко распространены в органах и тканях животных и растений.

2. Глобулины – нерастворимы в чистой воде, но растворяются в слабых водных растворах различных солей. Обычно в качестве растворителя используют 10%-ный NaС1 или КCl. Глобулины встречаются как в животных, так и в растениях, однако особенно много их в белках семян бобовых.

3. Глютелины – белки растительного происхождения, растворимые в растворах щелочей, так как содержат большое количество дикарбоновых аминокислот (глутамат, аспартат). Глютелины содержатся в семенах злаков, у которых они (совместно с проламинами) составляют основную массу клейковины, а также в зеленых частях растений.

4. Проламины – белки растительного происхождения, растворимые в 50-70%-ном растворе этилового спирта. Содержат 20-25% глутамата и 10-15% пролина (отсюда название). Проламины встречаются исключительно в семенах злаков, у которых они (совместно с глютелинами) составляют основную массу клейковины.

* Сложные – кроме белковой части, содержат небелковую группу.

1. Липопротеины (в своем составе содержат липиды).

2. Металлопротеины (содержат металлы, к примеру, многие ферменты).

3. Нуклеопротеины (содержат нуклеотиды).

4. Гликопротеины (содержат углеводы).

Липо- и гликопротеиды входят в состав мембран клеток.

По конформации белки делят на:

1. Фибриллярные – состоят из параллельно расположенных полипептидных цепей, которые образуют волокна–фибриллы. Очень прочные, нерастворимые в воде. Выполняют структурную функцию (соединение тканей животных). Примеры: коллаген (кости), α-кератины (волосы, ногти).
2. Глобулярные – имеют форму глобулы, растворимы в воде. Выполняют динамическую функцию (движение веществ). Примеры- ферменты, гормоны, антитела, транспортные белки.
3. Промежуточные белки – имеют форму фибриллы, но растворимы в воде. К примеру, миозин, фибриноген.

По количеству полипептидных цепей белки делят на:

1. Мономерные (состоят из одной полипептидной цепи).
2. Олигомерные (состоят из нескольких полипептидных цепей).

По пищевой ценности белки делят на:

1. Сбалансированные (полноценные); содержат все незаменимые кислоты в нужных человеку пропорциях. К ним относятся белки животного происхождения (мясо, рыба, молоко).
2. Несбалансированные; незаменимые аминокислоты отсутствуют, либо их очень мало. К ним относятся белки растительного происхождения (за исключением сои, амаранта).

По выполняемым функциям белки делят на:

1. Ферментативные (каталитически активные; только белки способны выполнять эту функцию).
2. Структурные (входят в состав клеточных мембран).
3. Строительные (например, коллаген, который входит в состав костного вещества; кератин, который входит в состав ногтей и волос).
4. Транспортные (транспортируют различные вещества, например, белок гемоглобин переносит кислород).
5. Защитные (например, такие белки, как антитела, обеспечивают защиту от инфекций).
6. Регуляторные (например, гормоны – регулируют обмен веществ).
7. Запасающие, или резервные (белки семян, яиц).
8. Сократительные (такие белки мышечных волокон как актин и миозин).

Кроме того, белки, а точнее, образующиеся при их гидролизе аминокислоты, при полном расщеплении способны давать некоторое количество энергии. Однако энергетическая функция не является основной для белков и аминокислот.

14.Стадии биосинтеза белка. Роль т-РНК и м-РНК в биосинтезе белка.

Биосинтез белка — это многостадийный процесс синтеза и созревания белков, протекающий в живых организмах. В биосинтезе белка выделяют два основных этапа: синтез полипептидной цепи из аминокислот, происходящий на рибосомах с участием молекул мРНК и тРНК (трансляция), и посттрансляционные модификации полипептидной цепи. Процесс биосинтеза белка требует значительных затрат энергии.

Последовательность процессов синтеза полипептидной цепи белковой молекулы

1. Активация аминокислоты специфичным ферментом в присутствии АТФ с образованием аминоациладенилата
2. Присоединение активированной аминокислоты к специфичной тРНК с высвобождением аденозинмонофосфата (АМФ)
3. Связывание аминоацил-тРНК (тРНК, нагруженной аминокислотой) с рибосомами, включение аминокислоты в белок с высвобождением тРНК

Транскрипция и трансляция — основные этапы синтеза белка

Транскрипция — синтез РНК по матрице ДНК. У эукариот транскрипция происходит в ядре, а также в митохондриях и пластидах (как вы помните, у этих органелл есть собственный геном). В ходе транскрипции происходит синтез мРНК, тРНК и рРНК, которые непосредственно задействованы в синтезе белка, а также всех остальных типов РНК клетки (siРНК, piРНК, гидовые РНК, малые ядерные РНК и др.).

Трансляция — процесс синтеза белка на рибосомах, который происходит в цитоплазме клеток, а у эукариот - также в митохондриях и хлоропластах.

Транскри́пция (от лат. transcriptio — переписывание) — процесс синтеза РНК с использованием ДНК в качестве матрицы, происходящий во всех живых клетках.

Транскрипция катализируется ферментом ДНК-зависимой РНК-полимеразой. Процесс синтеза РНК протекает в направлении от 5'- к 3'- концу, то есть по матричной цепи ДНК РНК-полимераза движется в направлении 3'->5'.

Транскрипция - первый этап экспрессии гена. Если ген кодирует белок, то второй этап его экспрессии - трансляция, синтез белка на рибосомах. Но многие гены не кодируют белков. Это гены рРНК и тРНК, а также множества малых РНК, имеющих регуляторные или ферментативные функции. Такие гены при экспрессии не транслируются, а только транскрибируются; этаопм их экспрессии можно считать созревание (процессинг) РНК.

Транскрипция состоит из стадий инициации, элонгации и терминации.

Роль рРНК, тРНК и иРНК в клетке

Третичная структура тРНК. CCA-хвост показан оранжевым, акцепторный стебель — лиловым, D-плечо — красным, участок с антикодоном — голубым, антикодон — черным, Т-плечо — зелёным

тРНК — небольшие (длиной обычно от 74 до 95 нуклеотидов) молекулы РНК, которые переносят аминокислоты в рибосомы и обеспечивают их включение в состав растущей белковой цепи в ходе трансляции.

Трансляция

Трансляция — осуществляемый рибосомой синтез белка из аминокислот на матрице информационной (или матричной) РНК (иРНК или мРНК). Трансляция может происходить в клетках и в искусственных бесклеточных системах. Чтобы в пробирке с физиологическим раствором могла идти трансляция, туда необходимо добавить:

рибосомы - "машины" для синтеза белка),

иРНК - матрицы,

тРНК - переносчики аминокислоты и "адаптеры", переводящие нуклеотидный код в последовательность аминокислот,

аминокислоты - строительный материал,

специальные ферменты аминоацил-тРНК-синтетазы - обеспечивают специфичное присоединение каждой аминокислоты к "своей" тРНК

молекулы АТФ и ГТФ, гидролиз которых служит источником энергии для синтеза белка.

Кроме этого, для нормального синтеза белка необходим ряд дополнительных белков, не входящих в состав рибосом - факторы инициации, элонгации и терминации.

15.Особенности биосинтеза белка у про- и эукариот. Ингибиторы биосинтеза.

Этапы биосинтеза белка у прокариот : транскрипция , трансляция , посттрансляция

+у эукариот : транскрипция , процессинг , трансляция , посттрансляция .

Транскрипция – считывание котогенной информации с кодогенной цепиии ДНК .

Процессинг - образование зрелой матричной иРНК

Трансляция – это синтез полипептида в рибосомах включает пинициацию( начало) , элонгацию терминацию (конец)

Посттрансляция – образование функционального белка полипептида .

Особенности биосинтеза белка у прокариот

а) все этапы биосинтеза происходят в цитоплазме,

б) отсутствие экзон-интронной организации генов, вследствие чего в результате транскрипции образуется зрелая полицистронная м-РНК,

в) транскрипция сопряжена с трансляцией,

г) имеется только 1 вид РНК-полимеразы (единый РНК-полимеразный комплекс), тогда как у эукариот 3 вида РНК-полимераз, осуществляющих транскрипцию разных видов РНК.

Регуляция синтеза у прокариот (Жакоб, Моно).

Выделили у прокариот Оперон: группа структурных и функциональных генов.

+Т.е. перед геном (генами), несущим информацию о структуре каких-либо белков (структурные гены), находится группа функциональных генов (которые "отвечают", определяют процесс транскрипции). К функциональным генам относят: ген- промотор и ген-оператор и находящийся на некотором расстоянии ген-регулятор.

ВЛИЯНИЕ АНТИБИОТИКОВ И ТОКСИНОВ НА БИОСИНТЕЗ БЕЛКА.

Антибиотики - продукты жизнедеятельности микроорганизмов, образуемые с целью гибели других микроорганизмов. Антибиотики поражают самые важные процессы - матричные биосинтезы.

1. Вызывают структурную модификацию матрицы.

2. Вызывают модификацию РИБОСОМ.

3. Инактивируют ферменты.

4. Действуют на процессы биосинтеза белка у микроорганизмов, обычно на этапе трансляции. СТРЕПТОМИЦИН нарушает инициацию трансляции. КИРРОМИЦИН препятствует высвобождению ФЭ трансляции. ЭРИТРОМИЦИН и ХЛОРАМФЕНИКОЛ ингибируют ПЕПТИДИЛТРАНСФЕРАЗУ. Токсины - вещества, действующие на процессы трансляции у эукариот. Дифтерийный токсин ингибирует ФЭ и ТРАНСЛОКАЦИЮ. РИЦИН ингибирует большую единицу РИБОСОМ. Интерфероны блокируют трансляцию в зараженных вирусом клетках.

ТЕЛОМЕРЫ - это специализированные кольцевые районы хромосомной ДНК, состоящие из многократно повторяющихся НУКЛЕОТИДНЫХ последовательностей. При каждой репликации их количество уменьшается.

ТЕЛОМЕРАЗЫ - ферменты, синтезирующие теломеры. В своей структуре содержат участок РНК, по которому синтезируется ДНК. Количество теломер определяет длительность жизни. Если теломераза активна, то клетка бессмертна.

+Лимит ХЕЙФЛИКА - клетка делится ограниченное количество раз, и оно зависит от возраста. У новорожденных клетка делится 80 - 90 раз, в 70лет 20 -30 раз. В среднем у взрослого человека клетки делятся 50 -60 раз. Это связано с эффектом «КОЦЕВОЙ НЕДОРЕПЛИКАЦИИ». Её существование предложил ОНОВНИКОВ. При каждом раунде репликации одна нить ДНК укорачивается из-за удаления ПРАЙМЕРА. Если есть ТЕЛОМЕРЫ и ТЕЛОМЕРАЗА, то нить ДНК достраивается, если их нет, то с каждым моментом ДНК становится короче. Все соматические клетки содержат 10000-15000 пар нуклеотидов и отсутствует ТЕЛОМЕРАЗНАЯ активность. Клетки с теломеразной активностью бессмертны.

16.Классификация и характеристика основных групп белков.

Классификация белков

По растворимости: водорастворимые, солерстворимые, спирторастворимые, нерастворимые и пр.

По конформационной структуре: фибриллярные, глобулярные.

По химическому строению: протеины – состоят только из аминокислот, протеиды – помимо АК имеют в составе небелковую часть (углеводы, липиды, металлы, нуклеиновые кислоты)

Протеины:

1) Альбумины – растворимы в воде, не растворимы в конц. растворах солей. рI= 4.6-4.7. Существуют альбумины молока, яиц, сыворотки крови.

2) Глобулины – не растворимы в воде, растворимы в солевых растворах. Имунноглобулины.

3) Гистоны – растворимы в воде, в слабоконцентрированных кислотах. Обладают выраженными основными свойствами. Это ядерные белки, они связаны с ДНК и РНК.

4) Склеропротеины – белки опорных тканей (хрящей, костей), шерсти, волос. Не растворимы в воде, слабых кислотах и щелочах.

а) коллагены – фибрилярные белки соединительной ткани. При длительном кипячении они растворяются в воде и при застудневании образуется желатин.

б) эластины – белки связок и сухожилий. По свойствам похожи на коллагены, но подвергаются гидролизу под действием ферментов пищеварительного сока;

в) кератин – входит в состав волос, перьев, копыт;

г) фиброин – белок шелка, в совем составе содержит много серина;

д) проламины и глютенины – белки растительного происхождения.

Протеиды

Помимо АК содержат простетическую группу и в зависимости от ее химической природы они классифицируются на:

1) Нуклеопротеиды – простетическая група – нуклеиновые кислоты. Среди многочисленных классов нуклеопротеидов наиболее изученными являются рибосомы, состоящие из нескольких молекул РНК и рибосомных белков, и хроматин – основной нуклеопротеид эукариотических клеток, состоящий из ДНК и структурообразующих белков – гистонов (содержатся в клеточном ядре и митохондриях) (подробнее см. главы "Нуклеиновые кислоты" и "Матричный биосинтез").

2) Гемопротеиды - небелковый компонент этих протеидов – гем, построен из четырех пиррольных колец, с ними связан ион двухвалентного железа (через атомы азота). К таким белка относятся: гемоглобин, миоглобин, цитохромы. Этот класс белков еще называют хромопротеиды, поскольку гем является окрашенным соединением. Гемоглобин – транспорт кислорода. Миоглобин – запасание кислорода в мышцах. Цитохромы (ферменты) – катализ окислительно-восстановаительных реакций и электронный транспорт в дыхательной цепи.

3) Металлопротеиды – в состав простетической группы входят металлы. Хлорофилл – содержит гем, но вместо железа – магний. Цитохром а – содержит медь, сукцинатдегидрогеназа и др. ферменты содержат негеминовое железо (ферродоксин).

4) Липопротеиды – содержат липиды, входят в состав клеточных мембран

5) Фосфопротеиды – содержат остаток фосфорной кислоты

6) Глюкопротеиды – содержат сахара

17.Строение ферментов. Апофермент, кофермент, активный центр ферментов.

**Ферменты** являются глобулярными белками, могут быть простыми и сложными. Белковая часть сложных ферментов называется апоферментом, а молекула в целом холоферментом. Небелковые компоненты коферменты. Они действуют как акцепторы(доноры) функциональных групп удаляющихся от субстрата или присоединяющихся к нему. Если небелковая часть прочно связана с белковой и не отсоединяется, от неё в ходе реакции, то её называют простетической группой(кофакторами). Функциями коферментов или простетических групп явл.: 1. участвуют в акте катализа. 2. осуществление контакта между ферментным белком и субстратом. 3. стабилизация апофермента. Апофермент усиливают каталитическую активность небелковой части, определяет специфичность для ферментов.

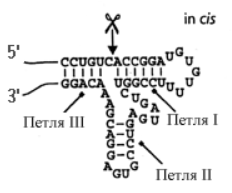
В составе фермента выделяют области, выполняющие различную функцию: 1. **Активный центр**– комбинация аминокислотных остатков (обычно 12-16), обеспечивающая непосредственное связывание с молекулой субстрата и осуществляющая катализ. У ферментов, имеющих в своем составе несколько мономеров, может быть несколько активных центров по числу субъединиц. Также две и более субъединицы могут формировать один активный центр. У сложных ферментов в активном центре обязательно расположены функциональные группы кофактора. В свою очередь в активном центре выделяют два участка: 1.**якорный** (контактный, связывающий, субстратный) – отвечает за связывание и ориентацию субстрата в активном центре, субстрат с ферментом связывается посредством ионных взаимодействий, водородных связей; В простых ферментах субстратный центр может совпадать с каталитическим; тогда говорят об активном центре фермента. **2. каталитический**– непосредственно отвечает за осуществление реакции.

**Аллостерический центр** – пространственно отделен от активного центра и имеется не у всех ферментов. Связывание с аллостерическим центром какой-либо молекулы, вызывает изменение конфигурации белка-фермента и, как следствие, скорости ферментативной реакции.

***Рибозимы*** - антисмысловые молекулы РНК, которые обладают каталитической активностью.

Они функционируют, связываясь с РНК субстратом по принципу комплементарности и катализируют расщепление фосфодиэфирной связи в специфическом участке субстрата.Они могут катализировать саморасщепление (внутримолекулярный катализ) и распад внешних субстратов (межмолекулярный или катализ).

В структуре рибозима обозначены три петли, образованные по принципу комплементарности отдельных участков одной цепи и место разрыва связи. Автономныйсплайсинг происходит, если последовательность G-U-C попадает между петлями I и III, а G и U становится участком узнавания для катализа. У них можно выделить каталитический домен (петля II) и распознающий участок, который представляет антисмысловую последовательность, способную специфически узнавать комплементарную последовательность на РНК субстрате и соединяться с этой последовательностью, образуя петли I и III. Рибозимы, обладающие таким механизмом действия, могут быть полезными в исследованиях в молекулярной биологии и технологии лекарственных форм

Рибозимы обладают способностью многократно взаимодействовать с РНК субстратами, образуя циклический процесс расщепления РНК. Другое важное отличительное свойство рибозимов - специфичность. Рибозимспособен расщеплять уникальную последовательность нуклеотидов. Эти свойства рибозимов обеспечиваются распознающим участком (петли I и III). Важным в обеспечении функции рибозима является длина распознающего участка. Если это очень короткая последовательность, то скорость диссоциации субстрата от рибозима может превысить скорость расщепления связи.

18. Основные свойства и механизм действия ферментов. Регуляция активности ферментов и их биосинтез.

**Активность - э**то единица количества субстрата, превращенное ферментом, в единицу времени, отнесенное к количеству самого фермента. Официальной единицей активности ферментов являетсякатал (кат) – количество фермента, которое превращает один моль субстрата в одну секунду. Это очень большая величина и активность фермента чаще выражают в микрокаталах.

**Специфичность** - Е катал-ют строго опред-ые в-ва (спос-ть отличать свойS). **1**. абсолютная (только 1S) **2**.Групповая. Только к опред-му типу р-ций(пепсин–расщепляет связи ароматич. АК). **3**. стереохимическая или пространственная. Эта избират-сть обусловлена специфич-ю и наличием активного центра–особый участок, где Sсвязувается с Е с образованием ЕS.

**Скорость *скорости* ферм-ых реакций сущ-но зависит от темп-ры.** Завис-тьconst*V* (k) от tвыраж-сяур-ем Аррениуса: k = e-Ea/RT.;К- константа скорости реак. е– основание натур. логорифма. Ea– энергия активации (Дж/моль\*К), Т-темп. R–универсальн. Газов. Постоян. 8,31.

Для хар-ки влияние t на *V* польз-сякоэф-том Вант-Гофа, показ-ет во сколько раз ускор-ся р-ция при увелич-ииt на 10оС (Q10) Е =0,46Т1Т2lgQ10. Для ферм-ых реакций Q10 = 1,7; хим: 2-3, физ 1,1. **Зав-ть активности от рН,** зависит от 1.На поверхности много ионизир-их групп, рН изменяет их сост-е и заряд белковой пов-ти. 2. Если S имеет заряды, то сродство к Е будет зави-сить от рН. 3. Превращение ЕS в ЕPпроисх при опред-ом рН. 4. В некоток-восст р-циях Н или ОН непоср-но уч-ют в р-ции. 5. От рН зависит *V*денат-ции и инактивации Е. Зав-ть от рН измен-ся в присут-ии в среде металлов.

**Механизм действия Е.**Фермент, соединяясь с субстратом: очищает субстрат от водяной «шубы», располагает реагирующие молекулы субстратов в пространстве нужным для протекания реакции образомподготавливает к реакции (например, поляризует) молекулы субстратов.

Обычно присоединение фермента к субстрату происходит за счет ионных или водородных связей, редко — за счет ковалентных. В конце реакции её продукт (или продукты) отделяются от фермента.В результате фермент снижает энергию активации реакции. Это происходит потому, что ферменты не могут самостоятельно обеспечивать энергией эндергонические реакции (для протекания которых требуется энергия). Поэтому например, реакции синтеза биополимеров часто сопрягаются с реакцией гидролиза АТФ.

Ингибирование – действие ингибиторов препятствующих обр-ю продуктивного ЕS. Е имеющие субъединичное строение имеет аллостерический центр, кот отдален от АЦ. С ним связ-сяаллост-ие эффекторы (не имеющие сродства к S), изменяют конформацию Е. Е, кот регул-ют акт-тьметаб-их путей должны гибко реагировать на изменение конц S. Это отражает кооперативность. «+» кооп-ть: Sсвяз-ся с 1 а.ц. и увелич-ет сродство к Sдра.ц. Способствует быстрому ответу Е на изм концS/ «-» кооп: половина стан-ся неактивной. 1. Механизмы конкурентного ингибирования ферментативных реакций. 2. Механизмы неконкурентного (аллостерического) ингибирования ферментных реакций.

**Регуляция.** Изменить или моделировать каталитическую активность Е могут не только S, но и другие взаимодействующие с Е вещества – эффекторы. О*братимая регуляция ферментативной активност*и - по типу обратной связи, когда конечный продукт ингибирует активность фермента Е, катализирующего первую стадию последовательности.  *Аллостерическая регуляция*. Фермент изменяет активность с помощью нековалентно связанного с ним эффектора. *Регуляция активности ферментов путем фосфорилирования-дефосфорилирования* . Фермент изменяет активность в результате ковалентной модификации. Реакция присоединения фосфатной группы и ее отщепление катализируют специальные ферменты - протеинкиназы и протеинфосфатазы. *Регуляция путем ассоциации-диссоциации субъединиц в олигомерном ферменте*. Этот процесс иногда начинается с ковалентной или нековалентной модификации одной из субъединиц. *Аденилатциклазная система.*Аденилатциклаза и протеинкиназа катализируют взаимосвязанные реакции, которые составляют единую регуляторную систему. С помощью этой системы в клетку передаются сигналы из внеклеточной среды, и в нужном направлении изменяется метаболизм клетки. Внеклеточным вестником сигнала могут быть разные молекулы, в том числе и гормоны. Эти молекулы не проникают внутрь клетки, но «узнаются» мембранными рецепторами. *Активация ферментов путем частичного протеолиза.* Некоторые ферменты синтезируются первоначально неактивными и лишь после секреции из клетки переходят в активную форму. Неактивный предшественник называется проферментом(трипсиноген-трипсин).**Ковал-аярег-ция**. Принцип – ковал-ое измен-е Е. Эти изм-иявызыв-сядр Е. 1. Обратимые ков изменения. Отн-сяфосфорилирование – дефосфор-е. Фосф-е реагир: пируватдегидрогеназныймультиферм-ый комплекс, триацилглицеролипаза и т.д. 2. Необратимые ков превращения. Превращ-е зимогена в фермент (пепсиногена в пепсин). 3. Биосинтез denovo Конститутивные Е (постоянно в кл) и адаптивные. П-р конкур. Ингиб: стрептоцит и N-аминобензойная к-та.

**Промышл. ферменты**. Основную часть ферментов, получаемых промышленным способом, составляют гидролазы. К ним относятся, в первую очередь *амилолитические ферменты*: α-амилаза, β-амилаза, глюкоамилаза. Их основная функция - гидролиз крахмала и гликогена. Крахмал при гидролизе расщепляется на декстрины, а затем до глюкозы. Эти ферменты применяются в спиртовой промышленности, хлебопечении.

*Протеолитические ферменты* образуют класс пептидгидролаз. Их действие заключается в ускорении гидролиза пептидных связей в белках и пептидах. *Пектолитические ферменты* уменьшают молекулярную массу и снижают вязкость пектиновых веществ. Пектиназы делятся на две группы - гидролазы и трансэлиминазы. Гидралазы отщепляют метильные остатки или разрывают гликозидные связи. Трансэлиминазы ускоряют негидролитическое расщепление пектиновых веществ с образованием двойных связей. Целлюлолитические ферменты очень специфичны, их действие проявляется в деполимеризации молекул целлюлозы. **Продуценты ферментов**. Для получения амилаз широко применяют плесневые грибы рода Aspergillius, видов niger, orizae; рода Rhizopus, видов delemar, tonkinensis, niveus, japonicum и др. Амилолитические ферменты синтезируют также некоторые дрожжи и дрожжеподобные грибы родов Saccharomyces, Candida, Endomycopsis и Endomyces. Многие бактерии, способны синтезировать активные амилазы: Bac. и др.

19.Строение молекулы ДНК. Функции ДНК. Механизм репликации ДНК.

Нуклеиновые кислоты представляют собой высокомолекулярные ли-нейные гетерополимеры с молекулярной массой от 2.104 до 1,2 .108 Да, а иногда и более. Отличие ДНК от РНК:- в состав ДНК входит дезоксирибоза, а в РНК – рибоза

- ДНК – 2х цепочечная молекула- отличаются 1 азотистым основанием (ДНК – Тимин, РНК – урацил)

- РНК гетерогенный класс органики, располагающиеся везде в клетке .

Мономерными звеньями нуклеиновых кислот являются нуклеотиды — сложные орга¬нические молекулы, состоящие из азотистых оснований, остатка пентозы (рибозы или дезоксирибозы) и фосфорной ки-слоты. В зависимости от типа пен¬тозы нуклеиновые кислоты подразделя-ются на дезоксирибонуклеиновые (ДНК) и рибонуклеиновые (РНК).

местом локализации ДНК являются структуры клеточного ядра — хромосомы, в которых ДНК находится в виде комплексов с белками (гистонами) — хроматина. ДНК (около 1% от общего его количества) также обнаружена в митохондриях всех типов эукариотических клеток и в хлоро-пластах раститель¬ных клеток. Соединения азотистых оснований с пентозой называют нуклеозидами. Нуклеотиды — мономерные звенья нуклеиновых кислот — представ-ляют собой монофосфорные эфиры нуклеозидов.

Дезоксирибонуклеи́новая кислота́ (ДНК) – макромолек., обеспечивающая хранение, передачу из поколения в поколение и реализацию генетической программы развития и функционир-я живых организмов.

В кл. эукариот (жив-х, раст-й и грибов) ДНК находится в ядре кл. в составе хромосом, а также в нек-рых клеточных органоидах (митохондриях и пластидах). В кл. прокариотических организмов (бактерий и архей) кольцевая или линейная молекула ДНК, так наз-ый нуклеоид, прикреплена изнутри к кл. мембране. У них и у низших эукариот (н-р, дрожжей) встречаются также небольшие автономные, преимущественно кольцевые молек. ДНК, наз-еплазмидами. Кроме того, одно- или двухцепочечные молек. ДНК могут образовывать геном ДНК-содержащих вирусов.

С хим. точки зрения ДНК – это длинная полимерная молекула(биополимер), состоящая из повторяющихся блоков –нуклеотидов. Каждый нуклеотид состоит из остатка фосфорной к-ты, присоединённого по 5'-положению к сахару дезоксирибозе(фосфодиэфирные связи), к к-рому также через гликозидную связь (C–N) по 1'-положению присоединено одно из четырёх азотистых оснований. Именно наличие хар-рного сахара и составляет одно из главных различий между ДНК и РНК, зафиксированное в названиях этих НК.

В ДНК встречается четыре вида азотистых оснований (аденин, гуанин, тимин и цитозин). Азотистые основания одной из цепей соединены с азотистыми основаниями другой цепи водородными связями согласно принципу комплементарности: аденин соединяется только с тимином, гуанин – только с цитозином.

Последовательность нуклеотидов «кодирует» информацию о различных типах РНК, наиболее важными из к-рыхявл-сямРНК, рибосомальные (рРНК) и транспортные (тРНК). Все эти типы РНК синтезируются на матрице ДНК за счёт копирования последовательности ДНК в последовательность РНК, синтезируемой в пр-се транскрипции, и принимают участие в биосинтезе белков (пр-cе трансляции). иРНК содержит информацию о последовательности а/к-т в белке, рРНК служат основой для рибосом (сложных нуклеопротеиновых комплексов, основная ф-ция к-рых – сборка белка из отдельных а/к-т на основе иРНК), тРНК доставляют а/к-ты к месту сборки белков – в активный центр рибосомы, «ползущей» по иРНК.

ДНК была открыта Иоганном Фридрихом Мишером в 1868 году.

ДНК явл-ся носителем генетической информации, записанной в виде последовательности нуклеотидов с помощью генетического кода. С молекулами ДНК связаны два основополагающих св-ва живых организмов – наследственность и изменчивость. В ходе пр-cа, называемого репликацией ДНК, образуются две копии исходной цепочки, наследуемые дочерними кл. при делении, т.о. образовавшиеся кл. оказываются генетически идентичны исходной.

Первичная структура представляет собой линейную последовательность нуклеотидов в одной цепочке. В такой форме в природе ДНК не существует, но именно первичная структура (последовательность нуклеотидов) определяет все ее свойства.

Вторичная структура – две полинуклеотидовые цепочки, каждая из которых закручена в спираль. Удерживаютс за счет водородных связей между азотистыми основаниями. Азотистые основания, образующие пары, называются комплиментарными: А = Т; G = С. Адениновый и тимидиновый соединяются двумя водородными связями, а гуаниновый и цитозиновый – тремя.

Третичная структура ДНК и структуры более высокого порядка представляют собой дальнейшую спирализацию и суперспирализацию молекулы ДНК.

Функции ДНК:

1. Молекулы ДНК хранят (содержат) наследственную информацию (программу) о структуре специфических для каждого организма белков.

2. Молекулы ДНК обеспечивают передачу наследственной информации от клетки к клетке, от организма к организму.

3. Молекулы ДНК участвуют в реализации генетической информации, т.е. участвуют в процессе синтеза полипептидов.

Основные физико-химические свойства ДНК

Уникальные биохимические и физико-химическими свойства нуклеиновых кислот определяются высокой молекулярной массой, особенностями химического состава и структурной организации на различных уровнях надмолекулярного строения. Среди характерных физико-химических свойств нуклеиновых кислот (и их растворов) следует выделить самые главные: кислотно-основные свойства, хелатирующую способность, способность к денатурации; оптические, коллоидные, осмотические свойства и высокую вязкость растворов. Кроме того, нуклеиновые кислоты в среде живой клетки могут находиться в жидкокристаллическом состоянии, что является крайне важным при описании их биохимических свойств.

20.Классификация и характеристика основных групп углеводов.

Среди углеводов есть вещества низко- и высокомолекулярные, кристаллические и аморфные, хорошо растворимые в воде и нерастворимые, способные окисляться и сравнительно устойчивые к действию окислителей. Общая формула Сn(Н2О)m

По химической природе углеводы делятся на: моносахариды (простые сахара);олигосахариды; полисахариды.

1. Строение, свойства и функции моносахаридов

Моносахариды делятся на:*1.По количеству атомов углерода*:Триозы(3)Тетрозы (4) Пентозы(5) Гексозы(6)Гептозы(7)Октозы(8). *2.По химическому строению:*АльдозыиКетозы.

Все моносахариды являются спиртами, либо альдегидоспиртами, либо кетоспиртами. Альдозы и кетозы являются изомерами.

Основные химические свойства моносахаридов:1.Мутаротация – переход аномера из одной формы в другую (α, β) - различаются положением полуацетального гидроксила. 2. Восстановление до многоатомных спиртов. 3. Окисление с образованием соответствующих кислот. 4. Эпимеризация (например, в слабощелочной среде D-глюкоза находится в равновесии с кетогексозой (D-фруктозой) и альдогексозой (D-маннозой). 5. Образование гликозидов. Конденсация аномернойОН-группы со спиртовой группировкой молекулы приводит к образованию О-гликозидов. Именно за счет этих связей построены олиго- и полисахариды. Этерификация. Гидроксильные группы моносахаридов образуют эфиры с различными кислотами. В метаболизме особо важную роль играет фосфорилирование сахаров. 7. Способность реагировать с азотсодержащими соединениями при высокой температуре с образованием специфических окрашенных веществ – меланоидинов. 8. Способность глюкозы (и других гексоз) подвергаться расщеплению (путем гликолиза) и сбраживанию микроорганизмами.

Основные функции моносахаридов:*1. Энергетическая* (моносахариды легко расщепляются с выделением энергии, которая затрачивается на образование АТФ).*2. Пластическая* (метаболическая). Моносахариды являются предшественниками для образования многих важных веществ: резервных и структурных полисахаридов, аминокислот, жирных кислот, глицерина и др.

2. Строение, свойства и функции олигосахаридов

Олигосахариды различаются по: 1.Количеству моносахаридов. 2.Качественный состав.3 Характер гликозидной связи между моносахаридами.

В растворах моносахариды всегда присутствуют в циклической форме; в состав олиго- и полисахаридов они также входят в циклической форме.Из олигосахаридов наибольшее распространение получили дисахариды. Рассмотрим химический состав наиболее важных из них.

Сахароза состоит из остатков α-глюкозы и β-фруктозы, соединенных β-гликозидной связью. Гидролиз сахарозы происходит при участии фермента инвертазы (сахаразы).

Мальтоза – дисахарид, состоящий из 2-х остатков α-глюкозы. Это основной продукт гидролиза крахмала.Мальтоза →α-глюкоза + α-глюкоза Гидролиз мальтозы проходит при участии фермента мальтазы. Мальтаза есть в слюне и поджелудочном соке.

Лактоза = β-галактоза + α-глюкоза.Гидролиз лактозы катализируется ферментом лактазой.

3.Строение, свойства и функции полисахаридов

Полисахариды подразделяются на 1) гомосахариды (моносахариды одного типа). Крахмал (гомосахарид) – запасной полисахарид растений; существует в 2-х формах: амилоза и амилопектин.*Амилоза* – линейный полисахарид, состоит из остатков α-глюкозы, соединенных α –1, 4 связью.*Амилопектин* – разветвленный полисахарид, в котором на каждые 12 остатков глюкозы, соединенных α –1, 4 связью, приходится α –1, 6 связь. Гликоген и целлюлоза.2) гетеросахариды (моносахара 2 и более типов). Гиалуроновая к-та (глюкуроновая кислота и N-ацетил глююкозамин), гепарин (глюкозамин и уроновые кислоты).

Функции полисахаридов:

1.Запас питательных веществ (крахмал, гликоген – наиболее распространенные вещества).

2. Источники энергии (при использовании их в качестве источников энергии они должны сначала подвергаться расщеплению до моносахаридов).

3.Структурная (целлюлоза – образует клеточные стенки у растений, хитин – у животных, муреин – у бактерий)

21.Классификация и физико-химические свойства основных групп липидов. Роль липидов и продуктов их распада в передаче сигналов (информации) внутрь клетки.

**Липиды** –выполняют самые разнообразные ф-ции: снабжают энергией клеточные пр-cы, формируют [клеточные мембраны](http://ru.wikipedia.org/wiki/Клеточная_мембрана), участвуют в межклеточной и внутриклеточной сигнализации. Липиды служат предшественниками [стероидных гормонов](http://ru.wikipedia.org/wiki/Стероидные_гормоны), [жёлчных кислот](http://ru.wikipedia.org/wiki/Жёлчные_кислоты),[простагландинов](http://ru.wikipedia.org/wiki/Простагландины) и [фосфоинозитидов](http://ru.wikipedia.org/w/index.php?title=Фосфоинозитид&action=edit&redlink=1). В [крови](http://ru.wikipedia.org/wiki/Кровь) содержатся отдельные компоненты липидов (насыщенные [жирные к-ты](http://ru.wikipedia.org/wiki/Жирные_кислоты), моно- и полиненасыщенные жк, [триглицериды](http://ru.wikipedia.org/wiki/Триглицериды), [холестерин](http://ru.wikipedia.org/wiki/Холестерин), эфиры холестерина и [фосфолипиды](http://ru.wikipedia.org/wiki/Фосфолипиды)).

***Простые липиды***. *Воска* - сложные эфиры жирной к-ты с одноатомным спиртом. *Глицериды* - сложные эфиры ЖКс глицерином.

ЖК – структурные компоненты различных липидов. Большинство ЖКв организме содержит четное число атомов углерода от 16 до 20. В молекуле природного жира содержатся разныеЖК. Жиры, содержащие насыщенные к-ты (без двойный связей), явл-сятвердыми (говяжий, бараний жиры), а содержащие большое кол-во ненасыщенных ЖК– жидкими.

***Сложные липиды.*** Фосфолипиды – группа липидов, содержащих в своем составе остаток фосфорной к-ты. Фосфолипиды делят на:

1. Глицерофосфолипиды – это производные глицерола, в к-ром первый и второй атомы углерода связаны сложно-эфирными связями с остатками ЖК, а третий атом углерода этерифицирован фосфорной кислотой, к к-рой в свою очередь могут быть присоединены различные заместители, чаще всего аминоспирты. Основой фосфолипидов явл-сяфосфатидная к-та.

2. Сфинголипиды – производные аминоспирта сфингозина. Аминоспиртсфингозинсостоит из 18 атомов углерода, содержит гидроксильные группы и аминогруппу.Примером сфинголипидов служат сфингомиелины. В клетке сфингомиелины – основные компоненты миелина и мембран кл. мозга и нервной ткани. Церамиды - основа большой группы липидов –гликолипидов, к-рые содержат в своем составе углеводный компонент.

Церебразиды имеют в своем составе моносахариды чаще галактозу илиглюкозу.

Стероиды – производныециклопентанпергидрофенантрена. В организме основной стероид – холестерол,остальные стероиды – его производные. Холестерол входит в состав мембран ивлияет на стр-рубислоя, увеличивая её жесткость. Из холестероласинтезируются желчные к-ты, стероидные гормоны и витамин Д3.

Ф-ции липидов: стр-рная, энергетическая, депонирующая (запасаются в виде ТАГ), защитная, терморегуляционная, регуляторная, сигнальная.

**Сигнальная функция белков** — способность белков служить сигнальными веществами, передавая сигналы между тканями, клетками или организмами. Сигнальную функцию выполняют рецепторные белки, которые осуществляют прием сигналов из внешней среды и передают команды в клетку.

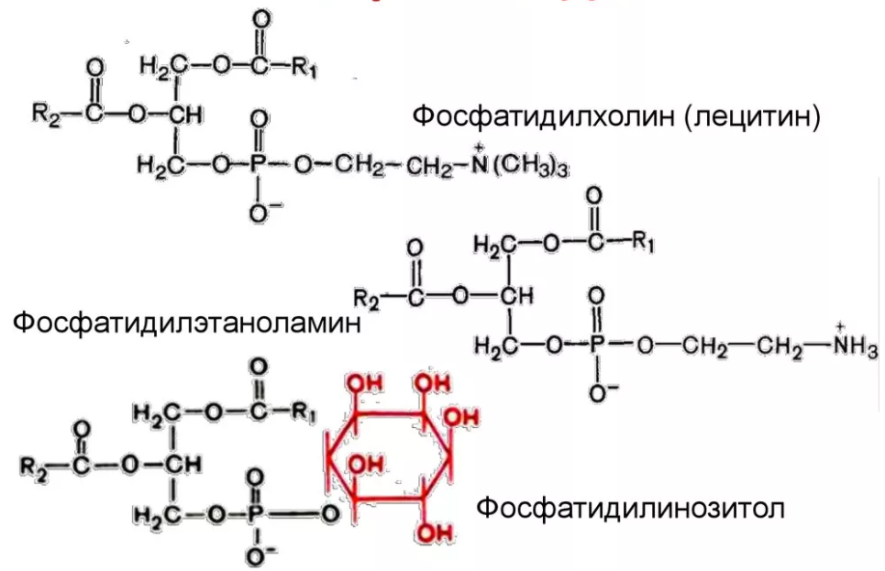
Часть сложных липидов выполняет в организме сигнальную функцию. Она заключается в поддержании различных процессов. Например, гликолипиды в нервных клетках принимают участие в передаче нервного импульса от одной нервной клетки к другой. Кроме того, большое значение имеют сигналы внутри самой клетки. Ей необходимо «распознавать» поступающие с кровью вещества, чтобы транспортировать их внутрь. Гликолипиды выполняют рецепторные функции и задачи взаимодействия с другими клетками. Фосфатидилинозитол непосредственно принимает участие в передаче гормональных сигналов в клетку.

Среди липидов также и вторичные посредники — вещества, которые принимают участие в передаче сигнала от гормонов или других БАВ внутри клетки. В частности фосфатидилинозитол-4,5 бифосфат задействован в сигнализированиипри участие G-белков, фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфат инициирует образование супрамолекулярных комплексов сигнальных белков в ответ на действие определенных внеклеточных факторов, сфинголипиды, такие как сфингомиелин и цермаид, могут регулировать активность протеинкиназы.

Некоторые гормоны (например, вазопрессин или адреналин), образуя комплекс с соответствующими рецепторами, через активацию соответствующих G-белков активируют фосфолипазу С, в результате чего в клетке появляются вторичные посредники ИФ3, ДАГ(появляются из фосфотидилинозитолбифосфата). Молекула ИФ3 стимулирует высвобождение Са2+ из ЭР. Кальций связывается с белком кальмодулином. Этот комплекс активирует Са2+-кальмодулинзависимую протеинкиназу. Ионы кальция и ДАГ участвуют в активации протеинкиназы С.







**Липиды** – один из важнейших классов сложных [молекул](http://ru.wikipedia.org/wiki/Молекула), присутствующих в [кл.](http://ru.wikipedia.org/wiki/Клетка) и [тканях](http://ru.wikipedia.org/wiki/Ткань_(биология)) [жив-х](http://ru.wikipedia.org/wiki/Животные). Липиды выполняют самые разнообразные ф-ции: снабжают энергией клеточные пр-cы, формируют [клеточные мембраны](http://ru.wikipedia.org/wiki/Клеточная_мембрана), участвуют в межклеточной и внутриклеточной сигнализации. Липиды служат предшественниками [стероидных гормонов](http://ru.wikipedia.org/wiki/Стероидные_гормоны), [жёлчных кислот](http://ru.wikipedia.org/wiki/Жёлчные_кислоты),[простагландинов](http://ru.wikipedia.org/wiki/Простагландины) и [фосфоинозитидов](http://ru.wikipedia.org/w/index.php?title=Фосфоинозитид&action=edit&redlink=1). В [крови](http://ru.wikipedia.org/wiki/Кровь) содержатся отдельные компоненты липидов (насыщенные [жирные к-ты](http://ru.wikipedia.org/wiki/Жирные_кислоты), мононенасыщенные ЖК и полиненасыщенные жк, [триглицериды](http://ru.wikipedia.org/wiki/Триглицериды), [холестерин](http://ru.wikipedia.org/wiki/Холестерин), эфиры холестерина и [фосфолипиды](http://ru.wikipedia.org/wiki/Фосфолипиды). Все эти в-ва не растворимы в воде, поэтому в организме имеется сложная система транспорта липидов. Свободные (неэтерифицированные) ЖКпереносятся кровью в виде комплексов с [альбумином](http://ru.wikipedia.org/wiki/Альбумины). Триглицериды, холестерин и фосфолипиды транспортируются в форме водорастворимых [липопротеидов](http://ru.wikipedia.org/wiki/Липопротеиды). Нек-рые липиды используются для создания [липосом](http://ru.wikipedia.org/wiki/Липосома).

Простые липиды. Воска - сложные эфиры жирной к-ты с одноатомным спиртом. Глицериды - сложные эфиры ЖКс глицерином.

ЖК– стр-рные компоненты различных липидов. ЖКлипидов чел. представляют собой углеводородную неразветвленную цепь на одном конце к-рой находится карбоксильная группа, а на другом – метильная группа. Большинство ЖКв организме содержит четное число атомов углерода от 16 до 20. В молекуле природного жира содержатся разные жирные к-ты. Жиры, содержащие преимущественно насыщенные к-ты, явл-ся твердыми (говяжий, бараний жиры), а содержащие большое кол-во ненасыщенных ЖК– жидкими. Жидкие жиры или масла обычно имеют растительное происхождение.

Сложные липиды. Фосфолипиды – группа липидов, содержащих в своем составе остаток фосфорной к-ты. Фосфолипиды делят на глицерофосфолипиды, основу к-рых составляет глицерол и сфингофосфолипиды – производные аминоспирта сфингозина. Фосфолипиды явл-ся основой всех клеточных мембран, образуют поверхностный гидрофильный слой липопротеинов крови.

1. Глицерофосфолипиды – это производные глицерола, в к-ром первый и второй атомы углерода связаны сложно-эфирными связями с остатками ЖК, а третий атом углерода этерифицирован фосфорной кислотой, к к-рой в свою очередь могут быть присоединены различные заместители, чаще всего аминоспирты. Основой фосфолипидов явл-ся фосфатидная к-та.

2. Сфинголипиды – производные аминоспирта сфингозина. Аминоспирт сфингозинсостоит из 18 атомов углерода, содержит гидроксильные группы и аминогруппу.Примером сфинголипидов служат церамиды и сфингомиелины. Вцерамидах спирт сфингозинсвязан с жирными к-тами необычной (амидной связью), а гидраксильные группыспособны взаимодействовать с др. радикалами. В клетке сфингомиелины – основные компоненты миелина и мембран кл.мозга и нервной ткани. Нек-рые патологические состояния связаны с изменениемсодержания сфингомиелинов. Так, увеличение содержания сфингомиелинов в стенкахаорты отмечено при атеросклерозе. Церамиды - основа большой группы липидов –гликолипидов, к-рые содержат в своем составе углеводный компонент.

Церебразиды имеют в своем составе моносахариды чаще галактозу илиглюкозу. Ганглиозиды наиболее сложные по составу липиды. Они содержат несколькоуглеводных остатков, среди к-рых присутствуетN-ацетилнейраминовая к-та.

Стероиды – производныециклопентанпергидрофенантрена. В организме основной стероид – холестерол,остальные стероиды – его производные. Холестерол входит в состав мембран ивлияет на стр-ру бислоя, увеличивая её жесткость. Из холестероласинтезируются желчные к-ты, стероидные гормоны и витамин Д3. Нарушение обмена холестерола приводит к развитию атеросклероза.

Ф-ции липидов: стр-рная, энергетическая, депонирующая (запасаются в виде ТАГ), защитная, терморегуляционная, регуляторная, сигнальная.

**Сигнальная функция белков** — способность белков служить сигнальными веществами, передавая сигналы между тканями, клетками или организмами. Сигнальную функцию выполняют рецепторные белки, которые осуществляют прием сигналов из внешней среды и передают команды в клетку.

Часть сложных липидов выполняет в организме сигнальную функцию. Она заключается в поддержании различных процессов. Например, гликолипиды в нервных клетках принимают участие в передаче нервного импульса от одной нервной клетки к другой. Кроме того, большое значение имеют сигналы внутри самой клетки. Ей необходимо «распознавать» поступающие с кровью вещества, чтобы транспортировать их внутрь.  
Гликолипиды выполняют рецепторные функции и задачи взаимодействия с другими клетками. Фосфатидилинозитол непосредственно принимает участие в передаче гормональных сигналов в клетку.

Среди липидов также и вторичные посредники — вещества, которые принимают участие в передаче сигнала от гормонов или других биологически активных веществ внутри клетки. В частности фосфатидилинозитол-4,5 бифосфат (ФИ (4,5) Ф2) задействован в сигналюванни с участием G-белков, фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфат инициирует образование супрамолекулярных комплексов сигнальных белков в ответ на действие определенных внеклеточных факторов, сфинголипиды, такие как сфингомиелин и цермаид, могут регулировать активность протеинкиназы.

Некоторые гормоны (например, вазопрессин или адреналин), образуя комплекс с соответствующими рецепторами (рецептор V1 для вазопрессина и αi-рецептор для адреналина), через активацию соответствующих G-белков активируют фосфолипазу С, в результате чего в клетке появляются вторичные посредники ИФ3, ДАГ(появляются из фосфотидилинозитолбифосфата). Молекула ИФ3 стимулирует высвобождение Са2+ из ЭР. Кальций связывается с белком кальмодулином. Этот комплекс активирует Са2+-кальмодулинзависимую протеинкиназу. Ионы кальция и ДАГ участвуют в активации протеинкиназы С .

Производные арахидоновой кислоты — эйкозаноиды — является примером паракринных регуляторов липидной природы. В зависимости от особенностей строения эти вещества делятся на три основные группы: простагландины, тромбоксаны и лейкотриены. Они участвуют в регуляции широкого спектра физиологических функций, в частности эйкозаноиды необходимые для работы половой системы, для индукции и прохождения воспалительного процесса (в том числе обеспечение таких его аспектов как боль и повышенная температура), для свертывания крови, регуляции кровяного давления, также они могут быть задействованы в аллергических реакциях.

22.Энергетический обмен.

Катаболизм (энергетический обмен) — процесс метаболического распада, разложения на более простые вещества (дифференциация) или окисления какого-либо вещества, обычно протекающий с высвобождением энергии в виде тепла и в виде АТФ.

**Способы синтеза АТФ в клетке:**

**1) Субстратное фосфорилирование –**синтез АТФ из АДФ и фосфорной кислоты с использованием энергии высокоэнергетического субстрата. Этот способ синтеза АТФ не требует присутствия кислорода, т.е. *происходит в анаэробных условиях*. Реакции субстратного фосфорилирования происходят: 1) в процессе гликолиза (макроэргические субстраты - 3-фосфоглицерат и фосфоенолпируват); 2) с использованием креатинфосфата; 3) в одной реакции ЦТК, с использованием макроэргического субстрата – сукцинил-КоА.

**2) Окислительное фосфорилирование**– синтез АТФ из АДФ и фосфорной кислоты с использованием энергии окисления водорода в дыхательной цепи. Этот способ синтеза АТФ требует присутствия кислорода, т.е. *происходит в аэробных условиях.*Дыхательная цепь локализуется во внутренней мембране митохондрий.

Подготовительный этап

Подготовительный этап осуществляется ферментами в ЖКТ. В результате действия ферментов сложные вещества превращаются в более простые: полимеры распадаются на мономеры. Это сопровождается разрывом химических связей и выделением энергии, большая часть которой рассеивается в виде тепла.

Под действием ферментов белки расщепляются на аминокислоты, жиры - на глицерин и жирные кислоты, сложные углеводы - до простых сахаров.

Этапы энергетического обмена веществ

Бескислородный этап (анаэробный) - гликолиз

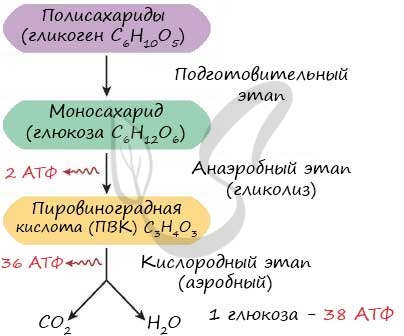
Этот этап является последним для организмов-анаэробов, обитающих в условиях, где кислород отсутствует. На этапе гликолиза происходит расщепление молекулы глюкозы: образуется 2 молекулы АТФ и 2 молекулы пировиноградной кислоты (ПВК). Происходит данный этап в цитоплазме клеток.

Кислородный этап (аэробный)

Этот этап доступен только для аэробов - организмов, живущих в кислородной среде. Из каждой молекулы ПВК, образовавшейся на этапе гликолиза, синтезируется 18 молекул АТФ - в сумме с двух ПВК выход составляет 36 молекул АТФ.

Таким образом, суммарно с одной молекулы глюкозы можно получить 38 АТФ (гликолиз + кислородный этап).

Кислородный этап протекает на кристах митохондрий (складках, выпячиваниях внутренней мембраны), где наибольшая концентрация окислительных ферментов. Главную роль в этом процессе играет так называемый цикл Кребса, который подробно изучает биохимия.



23.Предмет и основные этапы развития биотехнологии.

Этот **термин** в 1917 г. венгер. инж-ом Карлом Эреки при опис-ии процесса выращ-я свиней с использ-ем в кач-ве корма сахар.свеклы.

**Биотехнология** - любой вид технологии, связанный с использованием биологических систем, живых организмов или их производных для изготовления или изменения продуктов или процессов с целью их конкретного использования.

Ее становление ученые делят на 4 периода (Елинов 1995г.):

1. **Эмпирический** - доисторический, самый длит, охват около 8000 лет, древ.народы методом проб и ошибок науч-сь изгот-ть пиво и хлеб. К этому периоду отн-т: получ-е молоч-кисл. продуктов., квашен.капусты, силосование кормов, медовых алкогол. напитков.

***2. Этиологический*** - охватыв. 2 полов. 19в и 1/3 20в. Связан с исслед. Луи Пастера, основопол. научной микробиол. (ученики - Кох, Листер, Ивановский). 1892г - вирус тобачной мозайки. Доказали индивидуальность м/о, получили их в чистых культурах, научились их размножать в пит ср, исп-ть в целяхвоспроизведения. Началось получ-е ацетона, бутанола, лимоннойи молоч. к-т. Клюйвер и Перкин в 1933 разраб. теорию и технич. подходы глубин.культ-я.

***3. Биотехнический*** (с 1933)– обусловлен внедрением в биот-ию крупно-масшт-го герметезированного оборуд-я (биореакторы), которые обеспечивали проведение проессов в стер.условиях. Началось произ-во антибиотиков. (1939-45). За 40 лет этого периода были решены осн. задачи по конструированию, созданию и внедрению в практику необх. оборуд. – биореакторов, которые используют и в наст.время. Фишер получил нуклеин (ДНК из лейкоцитов) (1869). Нейберг расскрыл механизм процессов брожения (1912). Михаэлис и Ментон разраб. кинетику фермент.реакций (1913). Кребс открыл цикл трикарбоновых кислот (1937). Моно разраб.теоретич.основы непрерывного культ-ия м/о (1950).

***4. Генотехнический*** (возникновение) – начавшийся с 1972г., развивавшийся благодаря работе Крика и Уотсона по установлению структуры ДНК (1953), Берг с сотрудниками в США создали первую рекомбинантную молекулу ДНК. В 1982г - поступил в продажу человеч. инсулин, выработанный кишечн. палочкой, который несет в себе искуствено встроенную ген. инф-ю об этом гормоне. Также получили интерферон, фактор никротизации опухоли TNF, интерлейкин-2, соматотропный гормон.

**Класс-ция: *1. красная***– (более 60% миров.пр-ва) – обеспечением здоровья человека и коррекцией его генома, производство биофармацевтич. препаратов (антител, ферментов).

***2. зеленая*** – (12% миров. произ-ва) – направлена на разработку и создание генетически модифиированных растений, устойчивых. к биотическим. и абиотич. стрессам, определяют соврем. методы веделения с/х и лесн. хоз-ва.

***3. белая*** – (ок. 20% миров. пр-ва) – промышленность., объединяет пр-во биотоплива, биот-ю пищ. и хим., нефтеперераб. промыш-ти.

***4. серая*** – связана с природоохран деят-ю, биоремидиацией.

***5. синяя*** – связана с испол-ем морск. орг-в и сырьевых ресурсов.

24.Технология рекомбинантных ДНК и этапы молекулярного клонирования генов.

***Генетич. инженерия*** – это методы пол-я рДНК, объедин. послед-ти разн. происх-я. Делится на: генную – перестройка естеств. генома, для изм-я генетич. хар-к; геномную – перестройка генома вплоть до пол-я нов особи; хромосомная – перенос хромосом из- одн. кл. в др..

***Рекомбинантная ДНК*** – мол-ка ДНК с нов. комбинацией генов, получ. путем переноса генов или цел. констр-ций в чуж. геном.

***Этапы созд-я рДНК (молек. клонир-я)***. **1.** получ-е нужного гена; **2.** подбор оптим. вектора и вв-е в него этого гена для послед. переноса его в рецепиент. орг-м (переносчики – плазмиды, фагов. РНК, липосомы).**3.** перенос вектора в чужерод. геном клетки трансформируем. орг-ма. **4.** трансформ-ция кл-к орг-ма. **5.** идентифик-я (скрининг и селекция) клеток, к-е приобрели желаемый ген и устран-е немодифицирован. кл-к.

***Ферменты, испол. в тех-ии рДНК***. **1.** *Рестриктазы* – разрывают связи внутри ДНК. Эти ферменты узнают в молекулах ДНК опр-ные нуклеотидные последовательности из 4-х,5-и или 6-и осатков и расщепляют молекулу ДНК на сравнительно небольшое число строго определенных фрагментов. Принято наименовать по названию бактерий, из которых их выделяют. Для разл. участков испол-т опред. реестр-зы: Нра I, Ssр I, Рst I. **а)** рестриктазы , дающ. тупые концы и липкие; – мелкощепящие ЕсоRI и крупнощепящие 6 нуклеотидов АluI. ***2.*** *ДНК-полимеразы*: а) ДНК-зависим. ДНК полим-зы - уч-т в репликации ДНК, синт-т ДНК на матрице ДНК. б) РНК-завис. ДНК-пол-зы – (*ревертазы, обрат. транскриптазы*) – синт-т ДНК на матрице мРНК (ретровирусы, грипп, ВИЧ). **3.** *ДНК-лигазы* – соед-т фраг-ты мол-л ДНК. **4.** *Экзонуклеаза* –удал-я ненуж. концов ДНК.

***Способы конструирования рДНК***. **1.** *Объед-е ДНК-фрагментов по липким концам (рестриктазно-лигазный метод)- обрабатываюи одной рестриктозой две ДНК*  **2 .** *Коннекторный -* пришить липкие концы(ферменты). **3**. *Создание линкерных последовательностей.* Тупые концы превращены в липкие(хим синтезом, ДНК лигазы,присоединить и расщепить). ***Способы получения гена.*** **1.** *Выделение из ДНК*: воздействием рестриктаз, но мб расщепление нужного гена или наоборот лишний участок. **2.** *Химико-ферментативный синтез.* Если известна АК последовательность. 1- хим синтезом короткие олигонуклеотиды, соед-т их лигазами, и достр-т ДНК-полимеразой вторую цепь, т.о. пол-т нужн. ген, не содерж. лишн. уч-ов. Применим лишь для хорошо известной структуры нужного гена. **3**. *Обратная транскрипция.* Используют обратную транскриптазу( ревертазу, РНК-завис. ДНК-полим-зу). РНК не содержит интронов и на 3'-конце имеет полиадениловую последовательность. В качестве праймера или затравки используют политиминовую последовательность, которая соед-ся с полиадениловой. Используя эту затравку ревертаза синт-т на матрице РНК одну нить ДНК и образует на конце шпильку. Щелочью гидролизуют матр.РНК и приступают к синтезу второй нити ДНК. Праймером для этой цепи служит 3'-конец от этой шпильки. С помощью нуклеазы гидролизуют шпильку и получают полноразмерную двунитевую ДНК.

***Методы трансформации кл-к реципиентов.* 1. *Прямые методы****:* ***а)*** *микроинъекция* ***б)****электропорация* ***в)*** *биобалистика*. ***г)*** *липосомный метод* ***д)*** *Са-фосфат. метод*

***2. Косвенные (векторные) методы: Векторы*** – это специально сконструированная молекула, содержащая регуляторные участки и другие элементы, необходимые для переноса, реализации и поддержания генетической информации в рецепиентной клетке. ***1.*** *Плазмидные (В.-вставки)*. Плазмида– кольцевая молекула ДНК, стабильно передающаяся потомству бактериальной клетки независимо от хромосом. PBR 322 – гены устойчивости к тетрациклину и ампициллину. В один из этих генов встраивают нужную информацию и отбирают по устойчивости к определённому антибиотику. ***2.*** *В.* *на основе вирусов (В.-замещения)* – исп-ся фаги, вирус табач. мазайки, ретро, аденовирусы. Преим-ва – исп-т собств. мех-м проник-я в кл-ку, Нед-к – заб-е и гибель. Фаги– содержат линейную ДНК. Способен нести фрагмент ДНК 6000 – 10000 п.н. Левая область ответственна за синтез структурных единиц, средняя – за лизогенный путь развития, правая – содержит сайт инициации репликации, гены, кодирующие ферменты репликации***. 3.Гибридные В.*** Космида – молекула ДНК, несущая плазмидный репликатор, уникальные сайты рестрикции, ген-маркер, cos-сайт фага. Фазмида – это линейная двуцепочечная молекула ДНК, в которой объединены участки генома фага , ответственные за литическое развитие с линеаризованной плазмидной ДНК. . ***Идентификация***. Складывается из: 1) Отбор трансформированных клеток по гену-маркеру используемого вектора. 2) Обнаружение клеток не только несущих ген, но и синтезирующих продукт. Предложено 2 группы методов.

1-я группа основана на прямом анализе ДНК или секвенировании: 1-й *метод Максама-Гилберта*. Используются химическая модификация нуклеотидов с последующим расщеплением по модифицированным остаткам. Вводится радиоактивная метка, делится на 4 порции и в каждую вводится химический реагент, модифицирующий только один тип нуклеотидов, затем производится расщепление по модифицированным остаткам. Полученные фрагменты ДНК наносят на пластинку с полиакриламидным гелем. Под действием электрического тока фрагменты движутся от + к - , затем делают рентгенограмму и определяют последовательность.

2-я группа. Методы основаны на идентификации продукта гена: иммуноферментн., -радиацион., флоуресцентн..

1) *метод селект. питат. подложек*, клетки отбирают на среде с субстратом этого фермента (лактозой).

2) *отб-т по прод-ту* – белку синтеза. 3) *иммунологич. детекция*. Если в кл-ку встроен ген человеч. б. - интерферона, то кл-ки можно отоб-ть при помощи антител к нему.

25.Генетическая и клеточная инженерия человека.

Введение гена в человеческий организм можно осуществить различными путями, в зависимости от выбора которых различают: **1)** ***генную терапию соматических клеток*** — исправление генетических нарушений клеток тела (соматических) человека; ***2) генную терапию герменативных клеток***, или введение чужеродного гена в репродуктивную ткань пациента, при этом генетические нарушения его потомков исправляются; ***3) усилительную генную инженерию*** — внедрение дополнительных копий генов или чужеродного гена в ДНК здорового человека с целью усилить некоторые индивидуальные характеристики, отдельные черты характера и т. д.; ***4) евгенистическую генную инженерию***, состоящую в попытке изменить или улучшить сложные человеческие черты, каждая из которых кодируется большим количеством генов, например, индивидуальность, интеллект, характер, формирование органов тела и восстановление человека de novo из комплекса генетического материала. В будущем станет возможным направленное привнесение свойств, не присущих ранее данному типу клеток. Предполагается, что, вводя в организм новые, не свойственные ему гены, можно будет лечить онкологические, инфекционные и аутоиммунные заболевания.

***Генная терапия соматических клеток*** осн-на на испол-ии тех-ии рДНК и вв-е ее в кл-ку реципиент, где и начинает функц-ть интересующий ген. ***Целью* *генной инженерии герменативных клеток*** является выяснение механизмов встраивания генов в соответствующие герменативные клетки, а также способности встроенных генов передаваться потомству и функционировать наравне с собственными. Лабораторные исследования по введению генов в репродуктивные клетки мышей показали эффективность использования метода микроинъекции в оплодотворенные яйцеклетки. Однако этот подход неприменим к человеку, поскольку не всегда удается добиться правильной экспрессии встроенных механическим способом генов в потомстве и в последующих поколениях. Третье направление генетической инженерии касается ***усиления(улучшения) некоторых характеристик человеческого организма*** и в отличие от первых двух предполагает, что генно-инженерные манипуляции будут производиться с совершенно здоровыми людьми, которым дополнительно встраивается ген или небольшое число генов, продукты которых приводят к желаемому эффекту, например увеличению роста индивида при внедрении в его организм дополнительных генов гормона роста. Считается, что усилительная генная инженерия позволит не только увеличивать рост, по и менять такие индивидуальные характеристики, как метаболический баланс в организме (похудеть или поправиться). Однако реализация этого направления — перспектива относительно далекого будущего, поскольку наши знания о человеческом организме, о биохимических процессах, происходящих в нем, пока неполны. Кроме того, необходимо рассмотреть и ряд этических проблем, поскольку вмешательство в человеческий организм может привести к самым непредсказуемым последствиям, например, таким, как перерождение нормальных клеток в злокачественные, неправильное встраивание чужеродного гена и т. д. В настоящее время в прессе широко обсуждается ***евгенистическая генная инженерия***, в частности высказываются опасения, что данное направление приведет к созданию монстров, людей с заранее запрограммированными чертами характера и т. д. На данный момент специалисты этой области занимаются изучением генов и генных комплексов, участвующих в кодировании таких характеристик, как индивидуальность, характер, формирование органов тела, интеллект, эмоциональные особенности. Также изучаются влияние разнообразных факторов на эти гены и их совместное взаимодействие в отдельном индивидууме. Создание же человека с запрограммированными характеристиками пока является отдаленной перспективой, скорее, из области фантастики.

В отличие от вышеперечисленных направлений генной инженерии человека соматическая генная инженерия уже находит практическое применение для исправления различных генетических нарушений.

ДНК-липосомы, Биобалистич. дост-ка, Векторная доставка, Кл-ки выд-т из кожн. покровов, обраб-т их и возвращ-т их в орг-м. **б)** Стволов. кл-ки пол-т пункцией из красн. кост. мозга ч-ка, затем их кул-т на пит. ср., трасф-т (путем электропорации), размн-т их, провер-т их и пункцией вводят в **.** орг-м ч-ка.

26.Использование методов генетической инженерии в растениеводстве.

Понятие *«генетическая инженерия растений»* включает работы на клеточном уровне и учитывает все аспекты культуры клеток и тканей, молекулярную биологию и перенос генов. Основное препятствие для введения ДНК в растительные клетки — клеточная стенка. Поэтому используют растительные *протопласты* Разработан *метод слияния протопластов* и получения на их основе соматических гибридов.

В настоящее время на первый план выдвигаются *две проблемы*. Первая — *идентификация и выделение генов*, предназначенных для переноса в растение с целью приобретения им нового полезного признака. Вторая — *разработка простых и доступных методов этого переноса* с последующей работой новых генов в растениях.

***Методы переноса генов в растения*** можно разделить на две основные группы: **1)** *с помощью векторных систем* (плазмид. векторы на основе Т-плазмиды из бактерий агробактериум тумифациентс) и **2)** альтернативные *методы прямого переноса* (биобалистика).

*Основные же пути развития генетической инженерии растений* следующие: **1.** обогащение культурных растений дополнительными запасными веществами с помощью генов, взятых от других растений; **2.** повышение эффективности фотосинтеза растений на основе генов рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы, хлорофилл-α/b-связывающих белков; **3.** изменение азотного метаболизма, например, с использованием генов, кодирующих глутаминсинтазу, участвующую в транспорте и запасании азота; **4.** придание устойчивости к гербицидам, засолению почв, повышенной и пониженной температурам, другим неблагоприятным факторам внешней среды; **5.** получение белков человека. Так, создай траисгенный рапс, содержащий гены отдельных нейропептидов человека (к примеру, лейэпкефалииа, связанного с геном альбумина семян рапса). **6.** перенос токсинов бак-й в кл-ки раст-й- насекомые, поедающие листья, погибают. **7.** увеличение сроков хранения культур. Так, выведен новый сорт помидоров, длительно сохраняющихся без размягчения вследствие подавления активности фермента полигалактуронидазы.

**Применение.**

1. ***Генно-инженерные работы по биол. фиксации N2*.** nif-гены кодируют ферменты и факторы нитрогеназного комплекса, fix-гены -все остальные гены, продукты которых участвуют в азотфиксации. Большое значение имеют гены *sym* определяют симбиоз между растением и ризобиями и формирование клубеньков. В рекомбинантной E.coli (родственной азотфиксаторам) в анаэробных условиях имела место нормальная экспрессия nif генов и успешная азотфиксация. Наряду с трансгенозом nif-генов в бактерии разрабатывается генно-инженерный проект по переносу nif-функций в высшие растения, чтобы обеспечить связывание азота непосредственно в растительных тканях, независимо от наличия особых симбиотических организмов. Перенос этих генов клеткам *Agrobacterium tumefaciens* (способны инфицировать широкий круг двудольных растений) привели к формированию клубеньков, но в таких клубеньках отсутствовали некоторые структуры, бактероиды (клуб. бак-ии), не было азотфиксации. Генно-инженерной задачей доступной для решения в ближайшем будущем станет повышение эффективности существующих систем азотфиксации с помощью известных приемов, основанных на увеличении дозы гена, усилении транскрипции генов, продукты которых образуют узкое место в каскадном механизме азотфиксации, путем введения более сильных промоторов.

***2. Генно-инженерные работы в области повышения эффективности фотосинтеза.*** Фотосинтез, осуществляемый растениями, характеризуется в целом весьма низкой эффективностью,т.к. фотосинтетический аппарат использует лишь 3 4% падающего света. Современный путь увеличения фотосинтетических возможностей культурных растений — селекция с целью ускорения раннего роста и формирования листьев, улучшения «архитектуры» растений, увеличения площади листовой пластинки и сроков жизнедеятельности этого органа. Но более важными являются следующие обстоятельства: **1.** способность растений к переносу продуктов фотосинтеза в те его части, ради которых данное растение **.** культивируется; **2.**  уменьшение потери сухого вещества при дыхании; **3.** переключение С3-пути фотосинтеза (злаковые) на более эффективный С4-путь (кукуруза) с помощью трансгеноза группы генов.

Основное внимание в генно-инженерных проектах уделяется механизму повышения концентраций СО2 и повышению сродства РБК к СО2. Более простой задачей явился бы перенос генов Е ФЕПК и декарбоксилазы в Сз-растения, не элиминирующий при этом собственные РБК Сз типа.

***3. Генно-инженерные работы в области увеличения содержания незаменимых аминокислот***. Существует генно-инженерный проект, рассчитанный на создание рекомбинантных растений злаков либо с амплифицированными генами белков зерна богатых лизином, либо с генами этих белков, подстроенных под более сильные промоторы. Второй путь увеличения свободного лизина в зерне предполагает химический синтез генов, которые программируют неприродные полипептиды, построенные в основном из незаменимых аминокислот. Был получен ген НБНА кодирующий белок с высоким содержанием лизина. Этот белок легко деградировался в организме животных. Этот ген был встроен в плазмидную конструкцию, созданную на основе плазмид Agrobactericum rhisogenes и A. tumefaciens. В качестве селективного гена был использован ген антибиотико-резистентности. Удалось трансформи ровать клетки растений табака этими рекомбинантными плазмидами и регенерировать химерные растения, в которых ген НБНА экспрессировался, программируя синтез искусственного белка.

***4. Генно-инженерные работы по созданию растений, устойчивых к ранним заморозкам.*** Существенный фактор повреждения многих растений ранними заморозками - сапрофитная микрофлора, *Pseudomonas, Xantomonas* и др. Клетки данных микроорганизмов способны синтезировать определенный *белок формирования кристалов льда*, локализующийся во внешней мембране этих бактерий и являющийся превосходным центром кристаллизации льда уже при температурах -1,5 - 1,8 С. Стерильные же растения не повреждаются заморозками вплоть до температур порядка -6-8 С. В основе генно-инженерного подхода к борьбе с повреждающим действием ранних заморозков лежит тот вакт, что БФКЛ мутанты *Ps. syringae и Ps. fluorescen*s как природные, так и экспериментально полученные, теряют способность повреждать сельскохозяйственные растения (цитрусовые, томаты, картофель) при низких температурах. Поэтому возникла идея получить стабильные БФКЛ мутанты названных бактерий, неспособные к реверсии к дикому типу, и вытеснить с их помощью природную микрофлору, синтезирующую БФКЛ.  
***5.Генно-инженерные работы по созданию растений, устойчивых к гербицидам.*** Недостаток многих гербицидов - способность воздействовать не только на сорняки, но также подавлять и многие культурные растения. К числу таковых относится глифосат, который подавляет синтез ряда важнейших аминокислот и поэтому убивает не только сорняки, но и культурные виды растений.  
Применение гербицидо-устойчивых растений позволит существенно видоизменить тактику борьбы с сорняками. В настоящее время обнаружено большое количество ферментов, разрушающих те или иные гербициды. Целый ряд ферментов получен в очищенном виде, для ряда из них клонированы индивидуальные гены. Введение таких генов в растения, чувствительные к гербицидам, может обеспечить возникновение устойчивости при адекватной экспрессии в нужном клеточном компартменте. Гены берут из микрофлоры почв, обрабат-х гербицидами длит. время.

***6.*** ***Генно-инженерные работы по созданию растений, устойчивых к насекомым-вредителям.*** *Bacillus turingienses* – кодир-т 4 разн. токсина, кот-е имеют разн. природу, к-е попадая в орг-м насек-х выз-т паралич, разруш-е и гибель насекомых. Подход: ген токсина встраивали в искусств. плазмиду на основе Т- плазмиды, в нее был встр-ен САМV-промотор, под контроль кот-го встр-ли ген бакт-й. Затем перен-ли плазмиду в агробактериум и заражали хлопчатник, т.о. получены трансген. раст-я хлопка, устойч. к насек-м-вред-м.

27.Использование методов генетической инженерии в животноводстве.

***Трансгенные животные*** – животные полученные в рез-те генно-инженерных манипуляций, в т.ч. животные у которых выключены какие-то гены. Ген.инженерия жив-ых имеет ряд преимуществ и недостатков.

*Преимущ-ва* – созд-е жив.с заданными полезными хар-ками., сокр-е селекционного процесса с нескольких десятилетий до 5-10 лет. *Нед-ки* – только 1% из трансформиров-ых клеток приживается и дает полноценное потомство, отклонения в развитии, не достиг-ся желаемый рез-т, морально-этические проблемы.

***Прямые методы***: **1)** м*икроинъекция* **2)** *адсорбция на кристаллах фосфата Са -* ***векторные методы***: **1)** *ретровирусы* на основе лейкоза мышей. Это РНК-содержащий вирус. При попадании в клетку на РНК строится ДНК-копия, которая встраивается в геном. И этот геном реплицируется животной клеткой. Векторы на основе **2)** *летальных вирусов*, вирус SV-40 – это ДНК содержащий вирус, в него встраивают чужеродный ген. **. 3)***Челночные векторы* – работают и в бактериях и в клетках животных. Для животных он был сконструирован из ДНК вируса, вызывающего доброкачественную опухоль; из плазмиды PBR 322.

В случае использования методов прямого переноса получают полностью **трансгенное животное** (каждая клетка несёт чужеродный ген, однако не во всех животных он работает, т.к. может попасть в область молчащих генов. Если трансформации подвергается многоклеточный зародыш, то получают **частично трансгенное животное**.

***1.Генно-инженерн. работы с геном гормона роста жив-х. Пол-е жив-х с ускорен. рстом и увелич. массой.***  Гормон роста – соматотропин. Первый успешный экперимент был проведен с мышами, в рез-те к-ого были получены мышата в 2 раза крупнее контрольной группы, причем встроенный ген передавался потомству. Затем ген гормона роста крупного рогатого скота вводили свиньям, при этом свинья прибавляли в массе на 23% быстрее, эффективнее усваивали корм, имели меньшую толщину шпика. Но есть и минусы этого метода: отклонение в обмене веществ, многие свиньи оказывались стерильными, у других возникал сахарный диабет, у некоторых были хрупкие кости. Перенос чужеродного гена гормона роста в др.животных не привел к проявлению каких-то фенотипических изменений (овцы, телята, кролики). Вероятно, это связано как со слабым узнаванием чужеродного гормона соответ.рецепторами, так и с исчерпанием резервов роста у с/х животных. С целью преодоления этих негативных факторов была предпринята попытка вместо доп.копий гена гормона роста в геном вводить ген, кодирующий рилизинг-фактор гормона роста. Встраивание такого гена приводило к увеличению уровня синтеза собственного гормона роста, однако фенотипические проявления не были отмечены.

***2. Генно-инженер. работы со структ. б-ми молока. Пол-е фармакологич. белков в молоке трансгенных животных.*** Белки молока – важный белок-казеин. Цель работ-увеличить его содержание в молоке. Встраивали дополнительные копии гена, отвечающего за синтез казеина и некоторых животных удалось получить молоко с повышенным содержанием белка. Другая проблема – обсеменённость и подверженность к скисанию. Животным встраивали ген, ответственный за синтез фермента лизоцима, который повреждал бактериальные клетки и молоко долго хранилось. Присутствие молочного сахара лактозы – встраивали ген, ответственный за синтез галактозидазы, в результате получали (животные давали) безлактозное молоко. Создание **животных-биофабрик** – способных секретировать в молоко человеч. белки. Для этого ген, кодир. дан. белок внедр-т под контроль промотора б-ка молока жив-го.

***3.*** ***Генно- инженерн. изм-е кач-ва и выхода шерсти овец.*** Увеличение выхода и качества шерсти овец – лимитирующим фактором являются серосодержащие аминокислоты. Чем их больше в рационе и чем их больше синтезируется в рубце, тем больше выход шерсти и выше качество. В настоящее время предполагаются два основных направления в решении этой проблемы: изменение баланса продуктов обмена веществ овец и манипуляция со структурными белками шерстных волокон. Для осуществления этих подходов предлагается вводить в геном овцы новые гены, модифицировать микроорганизмы рубца, генетически изменить кормовые и пастбищные культуры. Для биосинтеза кератиновых белков шерсти этих животных, необходимы серосодержащие АК. И для большей его выработки предполагается встраивание дополнительных копий генов в микроорганизмы или непосредственно в организм овцы. Причем эти гены предварительно должны быть модифицированы и работать только в эпителии желудочно-кишечного тракта животного.

28.Клеточная инженерия растений.

***Направления клет. инж-ии раст-й.* 1.** Пол-е БАВ раст. происх-я (женьшень): **1.1.** *Пол-е традиц-х прод-в метаболизма* (никотин, убихинон, алкалоиды).**1.2**. *Пол-е нов. необыч. соед-й*. **2.** Ускорен. микроклонал-е размн-е раст-й. **3**. Пол-е безвирусн. раст-й – суперэлиты: на стадии каллуса можно вылечить раст-е от вирусн. и грибн. забол-й, наг-т до 45-50С, доб-т в среду антиб-ки и такой здоров. каллус испол-т для пол-я взросл. раст-й. **4.** Пол-е раст-й, которые селекц. способами пол-ть невоз-но – это раст-я получ-е отдален. гибридиз-ей или самоопылением.**5**. Пол-е антерных кул-р – «потомки отца» - как гаплоид., так и диплоид. **6.** Клеточ. мутагенез и селекция – генетич. инж-я. **7.** криоконсервация и др. методы сохран-я генофондов – замор-е семян, пыльцы в жид. азоте (-196С). *Методы периодических пассажей*. Хранятся семена или вегетативные части растений, которые периодически высаживаются в грунт, культивируются, вновь собираются, закладывается на хранение. *Недостаток* – большая трудоемкость, большие площади, часто растение теряет ценное хозяйственные признаки в процессе пассажей. Более перспективна *криоконсервация*. Хорошо переносит криоконсервацию пыльца, пыльники, хуже семяпочки, завязи, еще меньше культуры клеток и тканей растений.**8**. Иммоб-ция растит. кл-к – исп-ся при непрер. способах пол-я БАВ.**Клеточная инженерия растений** основана на свойстве тотипотентности – способность клетки реализовывать генетическую информацию, т.е. из клетки можно получить целое растение (вегет. размножение: черенками, усами ,прививки). Получение культуры растительных клеток сводится к получению **каллуса** – масса недифф-ых клеток, близких по свойствам к меристематичским. Теоретически массу недифф-ых клеток можно получить из любого участка растительного организма, но на практике каллус можно получить из ограниченного числа клеток и тканей( апекальные, верхушечные и корневые ткани). **Микроклональное размножение. *Преим-ва* – 1.** пол-е ген-ки однород. посадоч. мат-ла; **2**. на стадии микроразмн-я воз-но освоб-е от вирусов; **3**. выс. коэф. размн-я; **4**. сокращ-е продол-ти селекцион. процесса и ускорение перехода раст-й к репродуктивн. стадии раз-я; **5**. размн-е раст-й неразмн-ся или трудно трад. СП-ми (маслич. пальма); **6**. внесезонность работ; **7**. автоматизация процесса выращ-я. ***Этапы МР.* 1**. выбор раст-я донора, изол-е из него кусочков ткани – *эксплантов* и пол-е хорошо растущ. стерил. кул-ры, для этого в среду доб-т ант-ки или на перв. этапах исп-т стерил-цию. **2.** микроразмножение, когда достиг-ся пол-е максим. кол-ва меристематич. клонов – размер их 0,25 см. **3.** укоренение размн-х клонов или побегов с послед. адаптацией к почв. усл-м. **4.** выр-е раст-й в усл-х теплицы и подг-ка их к внедр-ю в окр. ср. **Получение культуры клеток из растительного организма сводится к следующим этапам:** 1) обработка семян или частей растений в серии дезинф-их растворов(растворы спиртов, тяжелых металлов, хлорсодержащие, раствор KMnO4, формалина). Огран время, чтобы не убивать живые ткани, 2) затем объект помещают в стерильную чашку Петри, разрезают на экспланты и стер-но, 3) переносят на спец.пит.среды. ***Методы МР.*** **1**. активация уже сущест-х в орг-ме меристем: **а)** удал-е верхушечн. части (меристемы) раст-й – в рез-те активир-ся боков. и пазушн. почки, из к-х можно пол-ть нов. раст-е. **б)** в пит. ср. доб-т спец. растит. гормоны, к-е даже без удал-я верхушки стим-т обр-е побегов. **2.** Индукция возник-я адвентивн. почек непоср-но на ткани экспланта: исп-т для размн-я декоратив. раст-й (роза), культ-х (томаты), нек. древес. раст-й. В отл-е от предыд. исп-ся фрагмент с междоузлием, люб. микроскопич. фрагмент корня или стебля раст-я. **3.** Соматический эмбриогенез – исп-ся для раст-й, к-е не размн-ся вегетатив. методом (маслич. пальма). На перв. этапе у раст-я извл-ся кусочек ткани – эксплант, его помещ-т на пит. ср., гормон. состав ко-й запускает дедифференц-ку растит. ткани, обр-ся каллус, к-й может быть размножен, его после размн-я и роста помещ-т на пит. ср., **.** (стимулир. эмбриогенез – форм-е зародыша. **4**. Дифференци-ция адвентивн. почек в каллус. ткани – в отл-ии от пред. сп. в каллусе стим-т не образ-е зародыша, а адвентив. почек. Берется эксплант, из него пол-т каллус, его помещ-т на пит. ср. с комбин-ей гормонов и пол-т раст-е регенерант. **Микрочеренкование** – получение микрочеренков, включающих одно междоузлие с почкой. Микрочеренки помещают на питательные среды, стимулирующие корнеобразование, используют для высадки в грунт.**Применение.** В промыш-ти пол-т **шиконин** – крас. пигмент, образ. и накапл. в кл-х воробейника – исп-ся как краситель, и в фармац. препаратах. В **состав питательных сред** входят макро- и микроэлементы (N, P, K, Ca, S, Mg, Fe, B, Zn, Cu, Co, Mn, J, Mo); витамины В1, В6, В12, РР и другие; углеводы (сахароза, глюкоза, маннит); фитогормоны (чаще всего цитокинины и ауксины в определенном соотношении). Ауксины вызывают клеточную дедифференцировку, цитокинины дедифференцированных кл и необходимы для получения каллусных тканей.**Способы культивирования клет растений in vitro.** Поверхносное культивирование кал Кл на полутверд агаризованных средах, либо на мостиках из фильтр бумаги погруж в жидк питат среду. Глубинное культивирование. Культуры кл раст, выращивают в жидкой питат среде, наз суспензионными клетками. Способы выращивания: 1. Закрытая система периодического режима выращивания. Определ V инокулята помещ в const V пит среды и систему оставляют закрытой по всем параметрам, кроме газов. 2. Закр система проточного режима выращивания. периодически подводится свежая пит среда, старую удаляют в том же V. Клетки при этом остаются в системе в течение всего выращивания. 3. Открытая система проточного выращ. В систему периодич или непрерывно поступает свежая пит среда, при этом отбирается старая с клет массой. Два основных типа регуляции открыт проточн системы. Турбидостат – биореактор – под питат средой и отбор суспензии проводят по достижении определенной плотности (измер оптич плотность). Хемостат – с определ скоростью подводят свежую питсреду и с такой же скоростью отбирают суспензию.

29.Клеточная инженерия животных.

**Клеточная инженерия -** конструирование специальными методами клеток нового типа.

**Типы культивируемых клеток**. Некоторые виды клеток делятся in vitro лишь несколько раз, другие могут пережить до ста клеточных поколений; **три основных типа**: **1**.Первичные культуры клеток. Клетки, только что взятые от животного и переведенные в культуру, представлены различными типами; 5—10 делений. **2.** Диплоидные клеточные штаммы. Это клетки одного типа, которые способны претерпевать in vitro до 100 делений, сохраняя при этом сбой исходный диплоидный набор хромосом. **3.** Перевиваемые клеточные линии. Это клетки одного типа, которые способны неопределенно долго размножаться in vitro. Такие «бессмертные» линии обычно ведут свое происхождение от опухолей или трансформированных диплоидных клеточных штаммов. Часто они теряют сходство с теми клетками, от которых произошли, так как в течение длительного культивирования претерпевают многочисленные последовательные мутации.

**Питательные среды и условия культивирования.** После извлечения клеток из ткани или организма и помещения их в культуру культуральная среда должна обеспечивать все внешние условия, которые клетки имели in vivo. Это обеспечивает выживание клеток, их пролиферацию и дифференцировку. Для приготовления питательных сред обычно используются солевые растворы Эрла и Хенкса. Эти растворы, как и фосфатносолевой буфер Дульбекко и Фогта используются также для орошения и промывки клеток при пассировании культур, выделении клеточных линий и других манипуляциях с культурами клеток. Другим важным условием культивирования является осмотическое давление.**Стандартные среды для ведения культур животных клеток.** Среды Игла MEM и BME. Чаще используется МЕМ. Она содержит минеральные вещества, аминокислоты (13 незаменимых), 6 водорастворимых витаминов, холин и инозит, выполняющие роль углеводородного субстрата. МЕМ используется только с сывороткой, так как в ней нет биотин, витамин В12, ионы железа и микроэлементы. Основа раствор Эрла. Среда Дульбекко DME или DMEM (двойная модификация среды Игла). Используется при культивировании клеток различных типов, в том числе нетрансформированных клеток и гибридом. Является основой для бессывороточных сред. Содержит двойную концентрацию аминокислот, глицин, серин, пируват, железо. При использовании этой среды необходим инкубатор с 10% концентрацией СО2.Среда Искова IMDM - модификация среда Дульбекко. Добавлены незаменимые аминокислоты, биотин, витамин В12, селенит натрия. В среду введен HEPES и уменьшены концентрации NaCl и NaHCO3. Среда бессывороточная, обычно используется для культивирования лимфоцитов и кроветворных клеток.

**Системы культивирования клеток.** Существует 2 основных системы культивирования клеток. **1.** Непроточные культуры - тип культур, в котором клетки вводят в фиксированный объем среды. По мере роста клеток происходит использование питательных веществ и накопление метаболитов, поэтому среда должна периодически меняться, что приводит к изменению клеточного метаболизма, называемого еще и физиологической дифференцировкой. Со временем, в результате истощения среды происходит прекращение пролиферации клеток. Увеличить продолжительность жизни непроточных культур можно несколькими способами: прерывистый (часть культуры заменяется равным объемом свежей среды); постоянный (объем культуры увеличивается с постоянной низкой скоростью, а небольшие порции клеток периодически удаляются); перфузионный (осуществляется постоянное поступление свежей среды в культуру и одновременное удаление равного объема использованной (бесклеточной) среды). Перфузия может быть открытой, когда из системы удаляется вся среда, и закрытой, когда удаляемая среда проходит через дополнительный сосуд, где восстанавливается ее рН и осуществляется аэрирование, и возвращается в культуральный сосуд.Все системы непроточных культур характеризуются накоплением отходов в той или иной форме и непостоянством внешних условий. **2.** Проточные культуры обеспечивают истинные гомеостатические условия без изменения концентрации питательных веществ и метаболитов, а также числа клеток. Гомеостаз обусловлен постоянным вхождением среды в культуру и одновременным удалением равного объема среды с клетками. Такие системы пригодны для суспензионных культур и монослойных культур на микроносителях. Существует **2 крупных направления в культивировании животных клеток:** монослойные культуры и суспензионные культуры. Суспензионные культуры предпочтительнее с точки зрения увеличения выхода клеток.

**Применение.**

**1. Получение стволовых клеток:** искусств. оплодот-е ооцита сперматозойдом – из морулы извл-т тотипатентные кл-ки (способные к реал-ции всего генетт. мат-ла) – из эмбриона извл-т эмбриобласты, т.е. эмбрион. ствол. кл-ки – исп-т для трансплантации: в ткани миокарда, в подкорков. зоны при инсульте, в кров. ток при ВИЧ.

**2. Пол-е и прим-е моноклонал-х антител**. (Мильшнейн, Кёлер). Гибридомные тех-ии: мышей иммуниз-ли иммуноцитами барашка, затем у них удаляли селезенку, разрушали ее до внеклет. сост-я трипсином, пол-ли смесь селезеноч. кл-к. Их сливают с миеломными мутантн. раков. кл-ми, пол-т гибридомы. Получ. сусп-ю раствор-т и расспред-т так, чтобы в кажд. пробирку попала бы 1 клетка. После подращ-я на пит. ср. спец сос-ва, к-я поддерж-т рост только гибрид. кл-к, пров-т те кл-ки, к-е несут нуж антитела – спец. селектив. методы. Затем нуж. антитела размн-т путем суспензир-го культ-я. **Антитела прим-т**: иммуноферментн. анализ (беременность, яды, наркотики), леч-е заб-й, хромотография, адресн. доставка ЛП в липосомах, диагностика и терапия раковых забол-й. **3. Клонирование животных**. Перв. опыты провел Лопашов, а перв. рез-ты были пол-ны в **1997 г**. Яном Вильмутом по клон-ю овечки Долли. Донором ядра служили кл-ки молоч. железы овцы породы англ. дорсов (св. ок-ка), его вводили в энуклеир. яйц-ку из темн. шотланд. овцы (тем. ок-ка). Получ. эмбрионы на стадии морулы подсаживали в матку черноморд. овцы, в рез-те 1 из 236 развился. Также были прокл-ны КРС, свиньи, собаки.  **4. Констр-е химерн. орг-в.** Химерн. орг-мы – это в норме не сущ-е в природе. Примен-е: для пол-я трансплантантов орг-в ч-ка в жив-х. Напр., химерн. свинья: клет. ДНК ч-ка с геном поверх. рецепторов клонир-т в бак-х, извл-т у свиньи яйц-ку и трансф-т ее методом микроинъекции – искусст-но оплод-т яйц-ку – вносят в свинью – об-ся эмбрион – свинья – пров-т у свиньи анализ ДНК, если ген бак-ии присут-т в орг-х и тканях, то их для трансплан-ции.

30.Получение гормонов, интерферонов и интерлейкинов методами генетической и клеточной инженерии.

В организме человека вырабатываются десятки различных соединений, которые участвуют в регуляции метаболических процессов. Важное место среди них занимают **гормоны**, которые условно можно разделить на **3 группы** по химической природе: **1.** Пептидные гормоны состоят из небольшого числа аминокислотных звеньев (гипоталамические факторы, гормоны щитовидной железы — кальцитонии, гормоны кишечника и поджелудочной железы, нейропептиды). Для всех характерно образование более крупных предшественников с последующим специфическим расщеплением строго определенных пептидных связей.

**2**. Белковые гормоны включают семейства гормона роста и пролактина. Они построены из 190 — 195 аминокислотных остатков.

**3**. Гликопротеиновые гормоны, а именно: фсг, лг и хгч. Большинство этих гормонов ранее получали из трупного материала, однако в последние 2 — 3 десятилетия были разработаны генно- инженерные методы их получения.

***Инсулин*** сос-ит из А(21 АК) и В(30 АК) полипептид.цепей.

**Получение**: из спец клеток, образующих инсулин выделяли мРНК, кодирующий этот белок, с помощью обратной транскриптазы синтезировали нить ДНК комплемен-ную мРНК . Вторую нить,комплем-ную ДНК-копии получ. с помощью ДНК- полимеразы. ДНК-копию встраивали в плазмиду.Гилберт использовал плазмиду pBR322(ген устойч к пениц и тетрац). Плазмиду расщепляли эндонуклеазой в средней части гена(несет устойч к пенициллину). Затем на ее концы надстраивали 4 гуанина. Далее концы двух получ мол-л ДНК соединялись (комплементарно гуанин-цитозин). ДНК-лигазой сшивали ДНК-вставку и плазмиду. Вводят в клетку E.coli. Далее отбирают клетки котор. приобрели новую плазмиду используя генетич.маркер(устойчивость к тетрациклину) на пит среде с тетрациклином. Отобраны бактерии синтезировали инсулин.

***Интерфероны и интерлейкины*** – цитокины,участвуют в осущ специфич иммун р-ций. Потенциальные лечеб пр-ты, область применения возрастает с каждым годом. **Интерлейкины** - сранител-но короткие (150 АК) полипептиды, участвующие в организации иммунного ответа. ИЛ-1 образуется опред-ной группой лейкоцитов крови - макрофагами - в ответ на введение антигена. Стимулирует размножение др субпопуляций иммунных клеток. Т-хелпер в свою очередь выраб ИЛ-2, ктр стимулирует развитие В-лимфицитов,Т-киллеров и.тд. **Интерфероны(ИФ**) гр белков в-в выраб в ответ на проник вируса. Три типа: α-интерферон лейкоцитарный(не сод-т сахар.ост), β-фибробластный, у- иммунный, выраб Т-лифицитами (гликозилированы). На практике **α-ИФ** получают из лейкоцитов при низкоскоростном центриф-нии свежевыдел-ной крови человека. Перед центруф-ем обрабат вирусом (Сендай или ньюкаслской болезни), выд-т ночь. Лейкоциты отдел центриф-ем, вирус инактивируют, супернатант сод. натив ИФ.

***Технол схема пол-я ген-инж ИФ***: 1) индукция синтеза и выделение интерфероновой мРНК; 2) пол-е кДНК на основе мРНК; 3)встраивание кДНК в плазмиду; 4) введение плазмиды в E.coli; 5) размножение бактерий *B.subtilis, S.cerevisiae*; 6) сепарирование клеток; 7) дезинтеграция и экстракция клеток; 8) осаждение (полиэтиленамином) с послед центриф- ем; 9) высаливание ИФ из супернатанта аммония сульфатом; 10) диализ осадка; 11) растворение, пропускание через колонку с иммуносорбентом (пришитыми монклон.антителами);12)элюция ИФ с послед хроматографией на целлюлозном катионообменнике.

***Получение ИЛ:*** Моноциты обраб-ют эндотоксинами грамотриц.бак. далее из моноцитов выд-ют мРНК, из которой вырезают интроны. Экзоны сшивают при помощи лигазы и сшитый фрагмент обрабатывают ревертазой с получением кДНК. На след. этапе проводится идентификация интерлейкина этой кис-ты при помощи гибридизационного анализа. Далее его встраивают в фаг λ, ктрым трансформируют клетки E.coli. Трансформированные клетки размножают при 280С,а наработку интерлейкина ведут при 420С. Затем проводят выд-е и очистку.

31.Иммунобиотехнология: получение и применение моноклональных антител.

**МКА** вырабатываютсяВ-лимфоцитами. поликлональная сыворотка – это их смесь. Получение моноклональных антител возможно двумя способами:**1)** очистка и разделение поликлональной сыворотки на фракции, содержащие антитела одного типа, однако, этот способ очень сложный, трудно осуществимый, т.к. антитела очень незначительно отличаются друг от друга, **2)** метод гибридонной технологии, предложенный учеными Милстейном и Келером.  
***Метод Милстейна-Кёлера*** заключается в клонировании В-лимфоцитов, секретирующих только один определенный вид антител. Время жизни В-лимфоцитов очень мало. Поэтому проводят их слияние с клетками миеломы (раковые клетки), претерпевшими злокачественное перерождение. Ему подвергаются и В-лимфоциты. Клетки обладают двумя свойствами:**1)** возможностью синтезировать моноклональные антитела;**2)**способностью долгое время жить в культуре.

***Технология получения моноклональных антител***: на 1 этапе животное иммунизируют определенным антигеном X. Спустя несколько недель у него удаляют селезенку, содержащую В-лимфоциты; среди последних находятся и такие, которые продуцируют антитела к антигену X. Параллельно берут миеломные клетки, мутантные с нарушением норм пути биосинтеза нуклеотидов, используют сеоективную среду. На 2 этапе их соединяют с В-лимфоцитами селезенки. В качестве сливающего вещества используют полиэтиленгликоль, ионы кальция (II). В результате получают гетерогенную смесь, которая содержит несколько типов клеток:  
1) исходные В-лимфоциты селезенки в неизменном виде;2)исходные мутантные миеломные клетки; 3)гибридные клетки, среди которых гибриды миеломных клеток и В-лимфоцитов, продуцирующих антитела против антигена X. На 3 этапе полученную смесь разливают в лунки 24- луночного планшета. В каждую из них случайным образом попадают клетки в различных сочетаниях. Здесь находится и селективная среда, на которой длительно могут расти только гибридные клетки, так  как В-лимфоциты долго не живут in vitro, а мутантные миеломные клетки погибают сразу. В каждую из 24 лунок добавляют антиген X с целью обнаружить гибриды с антителами против него. После этого содержимое распределяют между лупками 96-луночного планшета. Подбирают конц-ю так, чтобы в кажд. лунку попала только одна клетка, к-ю потом размн-т в отд. колбах. Образуются клоны, которые проверяют на наличие антител к антигену X. Получают клон В-лимфоцитов, продуцирующих  моноклональные антитела.

***Применение МКА.* 1)** количественное определение различных веществ;

**2)**диагностика(идентификация определенного гормона, вирусных, бактериальных антигенов, антигенов группы крови и тканевых антиге нов); **3)**терапия. МКА способны нейтрализовать действие лимфоцитов, ответственных за отторжение трансплантата и аутоантител. На основе МКА был разработан иммуноферментный анализ (ИФА), инфекционные и неинфекц заболевания. Суть его проведения сводится к следующим стадиям: **1)**формирование специфического комплекса антиген антитело; **2)** введение в этот комплекс специфической метки;**3)**обнаружение комплекса тем или иным способом. ИФА предполагает, что специфический антиген (АГ1) иммобилизуют на твердом носителе, после чего комплекс обрабатывают антителом (AT), а затем антигеном (АГ2) к этому антителу. При этом ко второму антигену ковалентно пришивают фермент-маркер. Затем этот тройной комплекс необходимо обнаружить. Добавляют субстрат для ферментативной реакции и хромогенное вещество (в случае если продукты реакции не окрашены). По появлению пятен судят о наличии тех или иных моноклональных антител в исследуемой жидкости.  
 Тест на беременность. Гормон беременности — плацентарный хорионический гонадотропин человека (ХГЧ), который появляется в организме женщины на четвертый день после зачатия. Иммуноферментный метод определения ХГЧ следующий: 1) антитела к ХГЧ первого типа сорбируют в лунке иммунологической планшетки; 2) добавляют пробу биологической жидкости (кровь или мочу), из которой весь гормон привяжется к антителам; 3) вводят антитела второго типа, меченные ферментом, они также свяжутся с ХГЧ, если, конечно, он есть в пробе. В результате образуется трехслойный «бутерброд»: антитело — гормон — антитело. Поэтому этот анализ еще называют иммунферментпым сэндвич-методом; 4) добавляют хромофор, происходит обычная иммуноферментная реакция с ферментом-меткой, и лунка желтеет

32.Иммунобиотехнология: получение «безопасных» вакцин.

***Вакцины***- это препараты, получаемые из бактерий, вирусов и других м/о или продуктов их жизнедеятельности и применяемые для активной иммунизации людей и животных с целью специфической профилактики и лечения инфекционных болезней (Дженнер, кон.18в.).

В последние годы в связи с развитием методов генетической инженерии стали создаваться принципиально новые вакцины, названные в литературе ***«безопасные»***. Они получаются либо на основе поверхностных антигенов или антигенных детерминант вирусов — *субъединичные рекомбинантные вакцины*, либо на основе живых возбудителей, аттенуированных методами генной инженерии, — *живые рекомбинантные вакцины.*

***Иммуногенность***, или способность вызывать в организме образование антител, зависит от наличия на поверхности белковой молекулы так называемых *эпитопов*, или антигенных детерминант, образованных 6 — 8 аминокислотными остатками и обладающих наибольшим сродством с активным центром антитела. Иммуногенные свойства вирусных и микробных белков сильно зависят от их вторичной, третичной и четвертичной структуры.

Попытки получения противовирусных вакцин с помощью генно-инж-ого подхода до недавнего времени строились на выделении из вирусного генома того гена, который кодирует поверхностный белок вирусной частицы. Последний содержит несколько антигенных детерминант, против к-ых в организме переболевших или вакцинированных людей вырабатываются протективные антитела. На основе таких генов в составе рекомбинантиой ДНК в клетках бактерий или одноклеточных эукариот осуществляли синтез вирусного белка, который после соответствующей концентрации и очистки д.б.бы стать дешевой и безопасной противовирусной вакциной субъединичного типа. Т.о.была осуществлена экспрессия в бактериях или дрожжах генов, кодирующих поверхностный белок гемагглютинина вируса гриппа и ряд других белков. Эти препараты на основе полноразмерных вирусных белков явились **1 поколением вакцин**.**2 поколение** разрабатывалось уже на основе отдельных участков белковых молекул эпитопов. Такие вакцины, полученные химико-ферментативным синтезом или путем частичного протеолиза нативных вирусных белков, уже успешно применяются в случае ящура. Было показано, что они безопасны, не обладают побочным действием, но весьма дороги. Обладают существенным *недостатком*, а именно: у большей части вирусов, поражающих человека и животных, такие эпитопы расположены в участках белка, первичная структура которых подвержена сильной изменчивости (особенно у вируса гриппа). Благодаря этому вирусы легко преодолевают барьеры иммунной системы организма. В то же время в структуре их белков существуют консервативные участки, потенциально способные вызывать образование антител, но по каким-то причинам неиммуногенные в составе нативной вирусной оболочки. Получение этих консервативных **.** участков генноинж-ми методами и их использование для вакцинации приведет к созданию **вакцин 3 поколения** с неприродными антигенными детерминантами и широкого спектра действия, возможно на уровне рода.  
 ***Классификация***. ***Живые вакцины***. Изготовляют на основе ослабленных штаммов микроорганизма со стойко закрепленной авирулентностью (безвредностью) - краснухи, кори, полиомиелита, туберкулеза, ветрянки. ***Убитые или инактивированные вакцины***. Это вак-ны против тифа, чумы, коклюша, гриппа, полиомиелита, гепатита А. ***Вакцины на основе очищ. компон-в возбуд-й.*** (корпускулярные вакцины).Это в. против дифтерии, столбняка, пневмококков, менингококков, гриппа типа В, коклюша, сиб. язвы. ***В-ны, получ. методами ген. инж-ии***. (рекомбинантные вакцины.) Для производства этих вакцин применяют методы генной инженерии, встраивая генетический материал микроорганизма в дрожжевые клетки, продуцирующие антиген. После культивирования дрожжей из них выделяют нужный антиген, очищают и готовят вакцину. Примером таких вакцин может служить вакцина против гепатита В, баррелиоза(клещи, рассеян. склероз), а также вакцина против вируса папилломы человека (ВПЧ).

**Получение вакцин классич. методом**.

**1.** *Пол-е В. против микробных возбуд-ей забол-я*: брюшно-тифозн. вакцина (Salmonella tiphi). Технология: пол-е маточ. культуры (белково-гидролиз. среда)– кул-е маточ. к-ры в промышл. биореакторах (37С, рН7,6-7,8, 10-12 ч) – инактивация микробн. смеси (ув-е темп-ры, обр-ка фенолом, ацетоном, спиртом, УФ, УЗ) – центрифуг-е – пригот-е вакцины (после высуш-т разб.физ. рас-м и лиофильно высуш-т, запаев-т в ампулы).

**2**. *Пол-е вакцин против вирусн. возб-ей заб*-я: против гриппа. Тех-я: овоскопирование и отбор яиц с хорошо развитым эмбрионом – вв-е инфекц. заб-я в полость эмбриона(прокал-т стерил. яйцо и вв-т в полость, дырку запаив-т парафином) – темростатир-е эмбриона и одновремен. кон-ль эмбриона за их сост-ем – извл-е эмбриона, измел-е и экстракция вирусн. мат-ла –инактивация вирус. ч-ц – вв-е интернозально, т.к. укол не эффек-н поскольку вв-ся не целостн. частица, а лишь поверхност. белки.

**3.** *Пол-е вакцин методами ген. инженерии:* гипатит В.

Вакцины против вируса гепатита В.

Вирус гепатита В вызывает сывороточный гепатит (вирусная болезнь печени). Размножение происходит только в организме больного. Поэтому ранее единственным способом его получения было выделение вирусных частиц из крови больных людей, а единственной вакциной служили антитела, выделенные из сыворотки крови носителей вируса. Эти антитела использовались для пассивной иммунизации больных с острой формой гепатита.

Введении вирусной ДНК в L-клетки мышей. Они обнаружили, что вирусная ДНК интегрировалась в клеточную ДНК и что частицы HbsAG секретировались в культуральную среду без лизиса мышиных клеток. В 1981 г. Мариарти и его сотрудники создали гибридную молекулу ДНК, содержащую ДНК вируса SV40 и фрагмент ДНК вируса гепатита В. При введении в клетки почек обезьян она обусловливала синтез частиц HbsAG. Клонирование вирусной ДНК в клетках *Е. coli* и ее последующее введение в линии клеток млекопитающих позволили преодолеть часть трудностей, вызванных отсутствием системы in vitro для размножения вируса. Использование техники рекомбинантной ДНК для получения вакцин — шаг на пути к разработке синтетических вакцин. Несколько групп исследователей синтезировали иммуногенные пептиды, которые, возможно, послужат началом разработки синтетической вакцины против гепатита В. Это два циклических пептида, которые вводили мышам внутрибрюшинно, используя различные адъюванты. Через 7 — 14 дней после иммунизации были выявлены антитела к поверхности вируса гепатита В.

Подходы к конструированию вакцин против ВИЧ. Отвлекающей вакцины при ВИЧ-инфекции. Данный белок клонировали в клетках кишечной палочки, очищали на колонках с пришитым лигандом и вводили в организм ВИЧ-инфицированного. В результате он отвлекал часть вируса на себя, образуя комплекс антиген — антитело, который разрушался иммунной системой.

Другой подход для лечения ВИЧ-инфекции заключается в создании генно-инженерной *вакцины на основе макрофагов*. В последние вводили ген, кодирующий поверхностный белок ВИЧ. В результате экспрессии чужеродного гена образуемый белок встраивался в мембрану макрофага, который становился мишенью для киллеров. В результате происходила активация Т-киллеров, которые приобретали способность уничтожать другие клетки, пораженные ВИЧ.

Вышеперечисленные подходы пока не используются в широкой практике. Таким образом, проблема разработки метода полного излечения ВИЧ-инфекции пока является открытой.

33.Пропионово-кислое брожение и его применение в биотехнолгии.

Химизм пропионовокислого брожения.

Под пропионовокислым брожением подразумевают биохимический процесс превращения бактериями сахара, молочную кислоту и ее солей в пропионовую кислоту. В этом брожении, кроме пропионовой кислоты, образуются и такие продукты, как уксусная кислота, углекислый газ, ян­тарная кислота, ацетоин, диацетил.

**Пропионовокислое брожение**

1)глюкоза по пути гликолиза превращается в ПВК

2) ПВК с отщеплением водорода и СО2 превращается в ацетил-КоА3)(с образованием АТФ) ацетил-КоА превращается в ацетат (продукт брожения)

4) ПВК при помощи фиксации СО2 превращается в оксалоацетат

5) оксалоацетат восстанавливается до малата затем он фумаровой к-ты

6)фумаровая к-та восстанавливается до янтарной к-ты (фумаровое дыхание)

7) янтарная к-та с присоединением КоА превращается в сукцинил-КоА

8) с отдачей СО2 сукцинил-КоА превращается метил-малонилКоА

9) метил-малонилКоА превращается в пропионилКоА ,

10) путем отдачи КоА ,пропионил-КоА превращается в *пропионат (*продукт брожения)

Поскольку пропионовокислые бактерии развиваются, как правило, в тех же субстратах, что и молочнокислые (рубец и кишечник жвачных животных), то предпочтительным субстратом для окисления является молочная кислота, синтезирующаяся в результате молочнокислого брожения.

Существуют два метаболических пути образования пропионовой кислоты у пропионовокислых бактерий:

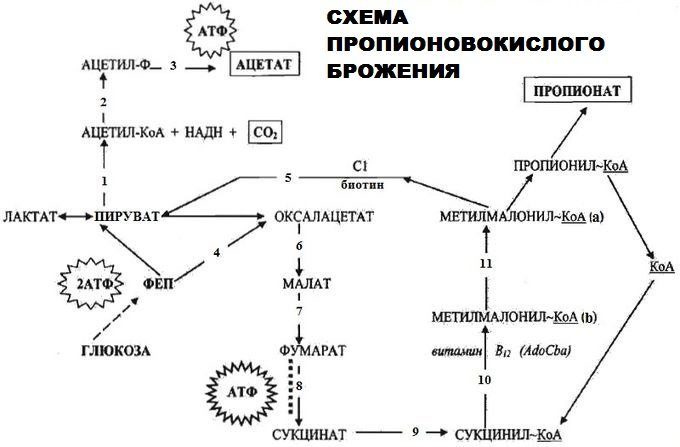
• акрилатный путь, в котором лактат в ходе ряда последовательных реакций восстанавливается до пропионата;

1) Пируват —> Акрилат —>Пропионат;

2) Пируват—>Лактат —>Пропионат;

• сукцинат -пропионатный путь, в котором лактат превращается в пропионат через стадии образования пирувата и сукцината.Пируват + С1 —>Сукцинат —>Метилмалонат —>Про­пионат

Акрилатный путь присущ, по -видимому, только нескольким видам микроорганизмов (Clostridiumpropionicum, Bacteroidesruminicola, Megasphaeraelsdenii). Субстратами для данного метаболического пути могут служить L-, D-, или LD-формы лактата.

Сукцинат-пропионатный функционирует у большинства микроорганизмов, образующих пропионат. Сукцинат в этом пути синтезируется как промежуточный продукт, но может продуцироваться также в качестве конечного продукта в малых или больших количествах.Исходным соединением при функционировании этого типа брожения является лактат (В процессе сбраживания лактата в пропионат потребляется одна молекула NADH2), который окисляется до ПВК. 

Морфология, экология и физиолого-биохимические свойства пропионовокислых бактерий.

Пропионовокислые бактерии объединены в род *Propionibacterium*.

В целом пропионовокислые бактерии характеризуются как грамположительные, неспорообразующие, неподвижные, факультативные анаэробы или аэротолератные. Палочки размером 0,5-0,7 х 2 мкм. Оптимум температуры для роста 30–37 ºС. Формируют колонии кремового, желтого, оранжевого, красного, коричневого цвета.

Клетки часто булавовидной формы с одним концом закругленным и другим суженным; некоторые клетки могут быть кокковидными, раздвоенными или разветвленными, но нитчатые формы отсутствуют.

На основании определения нуклеотидных последовательностей гена 16S-рРНК в род *Propionibacterium*включены 2 подгруппы пропионовых бактерий: классические, кожные.

**Классические бактерии** обитают главным образом в молоке, сырах (отсюда и другое название – молочные пропионовые). К *классическим пропионовокислым бактериям*относятся четыре вида: *P. freudenreichii*, *P. thoenii*, *P. jensenii*, *P. acidipropionici.*

**Кожные бактерии:**

 К группе кожных пропионобактерии относятся также 3 вида: Р. acnes, P. avidum, P. granulosum .

Обитают на коже людей, в рубце жвачных животных. Их рассматривают как биологическую защиту человека и полезную естественную микрофлору рубца животных. Они усиливают иммуностимулирующие реакции у людей, благотворно влияют на сельскохозяйственных животных и птиц, и поэтому нашли применение как компоненты лечебных и профилактических препаратов. Кожные пропионовые бактерии живут не только на поверхности нормальной кожи людей, их выделяют также из угрей, реже из содержимого желудка, ран, крови, гнойных и мягких тканевых абсцессов, хотя вопрос о причастности этих бактерий к возникновению заболеваний утвердительного ответа не имеет.

Применение пропионовокислых бактерий.

1.Молочная промышленность – производство кисло-молочных напитков. Бактерии входят в состав заквасок, чтобы обогатить про-ты витамином В12.

2.Сыроделие – исп при про-ве твердых сыров. Бактерии отличаются высокой липолитической активностью, что приводит к накоплению свободных жирных кислот (стеариновая, олеиновая и др). к-ты, образовавшиеся в процессе дают специфический запах и вкус. Углекислый газ формирует «Рисунок сыра», те дырки. Также солеустойчивость, термоустойчивость бактерий подходит для про-ва сыров.

3.Получение витамина В12 – пропионовокислые бактерии способны накапливать витамин в значительном кол-ве. Витаминный концентрат исп в животноводстве, либо в фарм производстве после очистки.

4.Получение пищевых красителей – из микробной биомассы выделяется пигмент.

5.Хлебопечение – для предания опр вкуса и аромата бактерии вкл в состав закваски.

6.Получение яичного порошка с более длительным сроком хранения – проблема яичного порошка в способности образования меланоидины (неприятно пахнущее в-во) при хранении. Для обессахареного яичного белка раньше исп ферментные препараты,которые полностью не удаляли углеводы. Исп бактерий позволило полностью удалить углеводы и насытить продукт витамином В12, что увеличивает срок хранения до 18 месяцев.

7.Получение пропионовой к-ты – она может быть использована для обработки зерна. Чтобы то не портилось.

34.Ацетоно-бутиловое брожение и его применение в биотехнологии.

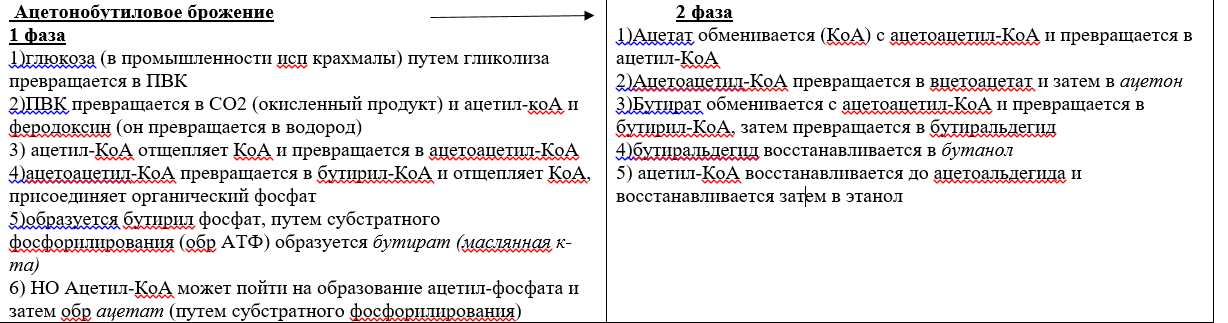
**Химизм:**

Ацетонобутиловое брожение имеет 2-х фазный характер.

1 фаза: Сначала происходит активный рост культур,затеммаслянокислое брожение, при котором углеводы сбраживаются до масляной к-ты и уксусной к-ты. При этом снижается pH среды.

2 фаза: из-за повышения в ней содержания жирных кислот индуцируется синтез ферментов, обеспечивающих накопление нейтральных соединений, в первую очередь н-бутанола и ацетона. 2 фаза – это непосредственно АББ. Происходит накопление бутанола, ацетона. Также образуется небольшое кол-во этанола и других продуктов.

Физиологический смысл ферментативных реакций 2 фазы в дальнейшем предотвращении подкисления культуральной жидкости, которое влияет на рост культуры. ( из-за подкисления рост замедляется, замедляются биосинтетические процессы).



**Возбудители брожения.Их таксономическое положение, морфология, экология и физиолого-биохимические свойства.**

Возбудители брожения объединяются в род Clostridium.

Принадлежность к этому роду определяется на основании нескольких признаков:

-способность к образованию эндоспор.

-облегатно-анаэробный характер метаболизма.

-неспособность осуществлять восстановление сульфата.

Клостридии — это грамположительные палочки с перитрихиальнымжгутикованием, формирующие сферические или овальные эндоспоры.

Бактерии сбраживают моно-, ди- и полисахариды, а также глицерин, маннит, глюконат, пируват и ряд других соединений, фиксируют молекулярный азот.

Все клостридии в зависимости от сбраживания субстрата можно разделить несколько физ.групп:

1)сахаролитическиеклостридии,сбраживающие вещества углеводной природы.

2) протеолитические клостридии(сбраживают белки, пептиды).

3) пуринолитические(сбраживают гетероциклические соединения)

Наиболее активным представителем в отношении уровня синтеза ацетона,бутанола является вид Clostridiumacetobutylicum.

Представители этого рода широко распространены в природе. Они обеспечивают разложение азотосодержащих соединений, растительного материала в анаэробных условиях. Некоторые виды патогены.

**Производство ацетона и бутанола.**

С 1916 года – промышленное про-во бутанола с испClostridiumacetobutylicum. Основным продуктом брожения считали ацетон, который исп для про-ва пороха. бутанол считали побочным продуктом брожения.

Развитие автомобилестроения привело к тому, что в 1927 году бутанол стал основным про-том брожения. Его использовали для про-ва нитроцеллюлозных лаков, и во время 2 Мировой войны.При этом бутанол обладает целым рядом преимуществ перед этанолом. По сравнению с этанолом бутанол может быть смешан в более высоких пропорциях с бензином и может использоваться в существующих двигателях автомобилей.

С 1954 года замечался спад цен на нефть и про-во бутанола сократилось.

В настоящее время его производят из нефти посредством гидролиза галогено-алканов или гидротацииалкенов.

Мировой рынок ацетона оценивается в 1,6 млрд литров в год, область применения- промышленный растворитель.

Способ микробиологического синтеза н-бутанола

Изобретение относится к микробиологии. Способ предусматривает культивирование бактерий рода Clostridium в батарее последовательно соединенных биореакторов с использованием питательного субстрата. Культивирование осуществляют путем совместного засева в питательный субстрат бактерий Clostridiumacetobutylicum и Clostridiumtyrobutyricum или Clostridiumacetobutylicum и Clostridiumbutyricum в соотношении от 1:1 до 1:11. Питательный субстрат содержит (мас.%): источники углерода в виде моно- и/или олигосахаридов, азот (общий), фосфор, магний , железо. Способ позволяет повысить уровень относительного содержания н-бутанола в составе смеси растворителей и общий выход растворителей. Содержание бутанола в составе растворителей составляет 62,3-74,6%, выход бутанола от сброженного условного крахмала и суммы растворителей составляет 22,8-30% и 34,1-48,6% соответственно

35.Получение органических кислот из углеводов (на примере лимонной кислоты).

Производство органических кислот методом микробиологического синтеза — относительно молодая отрасль промышленности. Исключение составляет производство уксусной кислоты, которую вырабатывают из винного спирта микробиологическим путем очень давно. Современное производство органических кислот, существующее в большинстве промышленно развитых стран, основано главным образом на использовании в качестве продуцентов различных штаммов плесневых грибов, чаще всего*Aspergillusniger.* Источником углерода в этих процессах являются углеводы — кристаллические сахароза и глюкоза, свекловичная и тростниковая меласса, гидролизаты древесины, крахмалсодержащие материалы.Указанные кислоты являются промежуточными продуктами метаболизма соединений углерода, в том числе интермедиатами цикла трикарбоновых кислот. Микробиологические способы получения органических кислот основаны на неполном окислении соединений углерода в аэробных условиях. Исключением является молочная кислота, которую получают в результате брожения.

С помощью микроорганизмов возможно получение более 50 различных органических кислот. В настоящее время только шесть кислот производятся в промышленных масштабах микробиологическим путем (лимонная, итаконовая, глюконовая, 2-кетоглюконовая, уксусная, молочная).

Способность продуцировать органические кислоты при росте на средах с углеводами широко распространена среди мицелиальных грибов родов*Aspergillus (A. awamori, A. clavatus, A. fumaricus, A. itaconicus, A. japonicus, A. niger, A. terreus, A. weti- Ш), Penicillium (P. chrysogenum, P. citrinum, P. citrogenum, P. luteum),* и*Rhizopus (R. nigricans, R. oryzae).*

Способность образовывать **лимонную кислоту** при росте на средах с углеводами — свойство, широко распространенное среди мицелиальных грибов. Для получения лимонной кислоты в лабораторном и промышленном масштабе использовали грибы рода *Aspergillus*(в том числе виды*A. awamori; A. clavatus, A. fuma- ricas, A. japonicus, A. niger, A. wentii),*рода*Penicillium*(в том числе*P. chrysogenum, P. citrinum, P. citrogenum, P. luteum), а* также*Botrytiscinerea, Paecilomycesdivaricatum, Mucorpiriformis, Polyporusanceps*и некоторые другие.

В настоящее время в качестве продуцента лимонной кислоты применяются различные штаммы*A. niger.*Используемые в производстве штаммы отличаются большой скоростью роста, легкостью культивирования и высоким выходом лимонной кислоты.

До недавнего времени в производстве использовали специально селекционированные штаммы гриба, выделенные из природных источников. Последние, два десятилетия в качестве продуцентов все шире применяются экспериментально полученные му- тантные штаммы, отличающиеся от природных рядом положительных свойств, в первую очередь более высоким выходом целевого продукта.

**Механизм биосинтеза**

Лимонная кислота образуется *A.niger*(и другими грибами) в цикле трикарбоновых кислот (ЦТК) в результате конденсации оксалоацетата и ацетил-КоА, осуществляемой цитрат-синтазой.

Необходимые для реакции оксалоацетат и ацетил-КоА образуются из двух молекул пирувата: одна молекула пирувата подвергается декарбоксилированию с образованием ацетил-КоА, вторая — карбоксилируется, давая оксалоацетат. Пируват образуется по фруктозобисфосфатном.у пути (пути Эмбдена, Мейр- гофа —Парнаса). Все ферменты этого пути, а также пируватде- гидрогеназа, пируваткарбоксилаза и цитрат-синтаза обнаружены у*A. niger.* В результате рассмотренных реакций одна молекула сахара (С6Н12О6) превращается в одну молекулу лимонной кислоты (СбН807). Экспериментально получаемый выход лимонной кислоты (95—98%) неразмножающимися клетками*A. niger* близок к теоретическому.Сверхсинтез лимонной кислоты происходит при лимитировании роста грибов-продуцентов минеральными компонентами среды и одновременном избыточном содержании источника углерода.

36.Микробиологическое получение полисахаридов.

В настоящее время микробиологическая промышленность многих стран выпускает ряд ценных экзогликапов:

* декстраи (Россия и другие страны),
* ксантан (США, Франция),
* пуллулан,
* курдлаи (Япония),
* склероглюкаи, или политран,
* заифло (США).

Внеклеточные полисахариды микроорганизмов чрезвычайно разнообразны по составу и строению. К настоящему времени исследован состав около 200 экзогликанов.

Основные этапы производства наиболее широко применяемого сейчас полисахарида — декстрана. Для получения декстранов используют штаммы Leuconostocmesenteroides. Ферментацию ведут на среде с 10 — 30 % сахарозы.В нашей стране разработана технология получения *частично очищенной декстрансахаразы*.

Многие микробные полисахариды обладают лечебным и профилактическим действием: повышают устойчивость организма к бактериальным и вирусным инфекциям, обладают противоопухолевой активностью, способствуют заживлению ран и регенерации тканей, благоприятно влияют на течение и исход воспалительных процессов, устраняют болевой синдром, снижают побочное действие лекарственных препаратов и рентгенотерапии. Лечебное и защитное действие полисахаридов определяется прежде всего их способностью повышать неспецифическую иммунобиологическую реактивность организма, влиять на различные защитные реакции, поддерживающие постоянство его внутренней среды.

**пирогеналь** - препарат, выделяемый из клеток *Salmonellatyphi* и *Pseudomanasaeruginosa*.

**Зимозан** - препарат из оболочек клеток *Sacch. cerevisiae*, состоящий из глюкана, глюкоманнана и минорных количеств тейхоевых кислот. Эти препараты нормализуют ряд сдвигов в иммунобиологических реакциях, оказывают положительное действие при лечении опухолей, ряда инфекционных и неинфекционных заболеваний.

Нейтральные декстраны с молекулярным весом около 75 000, продуцируемые *L. mesenteroides*, широко применяются у нас в стране и за рубежом в качестве заменителей плазмы крови. Перспективны как плазмозаменителипуллулан, а также леваны, синтезируемые *G. oxydans* и *Вас. polymyxa*.

В пищевой промышленности полисахариды микроорганизмов используются в виде пленок - покрытий продуктов, например сыров, для защиты их от высыхания и плесневения, в качестве стабилизаторов мороженого, фруктовых соков, приправ к салатам, загустителей сиропов, джемов, подливок, желе и других кулинарных изделий. Особенно перспективным в этом плане считается ксантан. Слизеобразующие штаммы *Streptococcuslactis* применяют в Швейцарии при производстве густых кефиров, сметан и некоторых мягких сыров. Экзополисахариды дрожжей родов *Saccharomyces* и *Ctreptococcus*, бактерий родов *Azotobacter* и *Arthrobacter* могут использоваться для улучшения качества хлеба. Добавление их к муке при выпечке хлеба повышает газоудерживающую способность теста, улучшает его, реологические свойства.

они могут заменять агар (гетерополисахариды *Вас. subtilis* и *Ps. elodea*, состоящие соответственно из глюкозы, галактозы, фукозы, глюкуроновой кислоты и глюкозы, рамнозы, глюкуроновой кислоты и О-ацетильных групп).

Напримергетерополисахарид *Corynebacteriumequi* var. *mucilagenosus*, обладают высокой вязкостью и могут заменять дорогие клеящие средства.

37.Микробиологическое получение белка.

Для получения белков используются дрожжи, бактерии, водоросли и мицелиальные грибы.

Преимуществом дрожжей перед другими микроорганизмами является их технологичность: устойчивость к инфекциям, легкость отделения от среды благодаря крупным размерам клеток. Они способны накапливать до 60 % белка, богатого лизином, треонином, валином и лейцином (этих аминокислот мало в растительных кормах). Массовая доля нуклеиновых кислот составляет до 10 %, что вредно действует на организм.рожжи применяются для пищевых и кормовых целей.Для выращивания дрожжей на гидролизатахрастительного сырья используются Candidaarborea и Candidautilis, они применяются для пищевых целей и используются в качестве белковых добавок к различным продуктам

Преимуществами бактерий является высокая скорость роста и способность синтезировать до 80 % белка. Полученный белок содержит много дефицитных аминокислот: метионина и цистеина. Недостатками являются маленькие размеры клеток и низкая их концентрация в культуральной среде, что затрудняет процесс выделения. В некоторых бактериальных липидах могут содержаться токсины. Массовая доля нуклеиновых кислот до 16 %. Используются только для кормовых целей.Источником углерода при культивировании бактерий могут служить природный и попутный газы, водород, а также спирты – метанол, этанол, пропанол.

Чаще всего на газовых питательных средах выращиваются бактерии рода Methylococcus, способные утилизировать от 85 до 90 % метана.

Преимуществами водорослей являются высокое содержание полноценного по аминокислотному составу белка, накапливающегося в количестве 65 %, легкое выделение водорослей из культуральной среды, низкое содержание нуклеиновых кислот – 4% (для сравнения – у высших растений 1-2 %). Водоросли используются для пищевых и кормовых целей.Для получения кормового белка используют одноклеточные водоросли Chlorella и Scenedesmus, сине-зеленые водоросли (цианобактерии) Spirulina (Spirullinaplatensis, Spirullinagetleri), способные синтезировать белки из углекислого газа, воды и минеральных веществ за счет энергии солнечного света.

Мицелиальные грибы традиционно используются в качестве пищевого продукта в странах Африки, в Индии, Индонезии, Китае и др. Накапливают до 50% белка, по аминокислотному составу приближающегося к белку животного происхождения, богаты витаминами группы В. Клеточные стенки тонкие и легко перевариваются в желудочно-кишечном тракте животных. Массовая доля нуклеиновых кислот составляет 2,5%.Грибы рода Rhizopussp. используют для твердофазной ферментизации соевых бобов. Через три дня мицелий гриба разрастается и связывает бобы в корж, содержащий до 40 % белка. В Индонезии такой корж жарят и используют в супах как заменитель мяса.

38.Производство биологических удобрений.

Существуют различные методы производства органических удобрений. Технологии производства зависят от типа требуемого удобрения. В целом, технологии могут быть классифицированы следующим образом:

Биологические методы обработки, а именно:

метод пассивного компостирования (т. e. буртование навоза на помётохранилищах, компостные ямы);

аэробные методы активного компостирования в компостных рядах или тоннелях с принудительной подачей воздуха (например поддув или механическое ворошение), влаги;

специальные активные технологии компостирования с использованием червей или иных методов биологической катализации процесса (ферментные препараты, энзимы и пр.), иногда включающих перемешивание с другими органическими материалами, такими как торф, опилки, солома и прочее;

анаэробные методы, обеспечивающие производство биогаза и устойчивой твердой фракции, очень похожей на продукцию активных методов компостирования. Данную фракцию можно применять на тех полях, где уже используются машины для распределения навоза крупного рогатого скота.

Физические методы, такие как:

термическая сушка посредством солнечной энергии или горячего воздуха, нагреваемого в процессе использования органических, неорганических или возобновляемых видов топлива;

гранулирование с производством пеллет путем продавливания материала через специальный перфорированный диск. Продукт можно применять на полях с помощью тех же машин, что используются для распределения минеральных удобрений. Требуется термическая сушка перед подачей в гранулятор;

сжигание навоза/помёта с возможностью рекуперации тепла за дополнительную стоимость и с производством сыпучего материала, состоящего из мелкодисперсной золы. Этот материал также может использоваться для производства пеллет или гранул.

39.Производство биопрепаратов для защиты растений.

Биологический препарат для защиты растений от вредных организмов (биопестицид) – это биологическое средство контроля численности вредителей, возбудителей болезней растений и сорняков, активным ингредиентом которого являются агенты биологической природы (микроорганизмы, их метаболиты, нематоды и т.д.).

Понятие микробиологических препаратов (МБП) является более узким, чем биопрепараты. Под ними понимаются препараты, содержащие живые клетки микроорганизмов, выбранных в качестве агента биологической защиты или биоудобрения, а также продукты их метаболизма. МБП могут быть представлены как в жидком виде (клетки в культуральной жидкости), так и в виде живых клеток, адсорбированых на нейтральном носителе.

Часть полезных бактерий из микробиологических препаратов, например бактерии рода Bacillus, закрепляются и зимуют в ризосфере растения, создавая положительный эффект последействия, проявляющийся в очищении почвы от патогенных грибов и бактерий, а также обогащении микробоценоза пашни полезной микрофлорой.

Правила применения и хранения для микробиологических препаратов значительно строже, чем для биопрепаратов на основе веществ микробной природы. Так, микробиологические препараты действуют лишь в определенном диапазоне температур. Например, для бактериальных препаратов наиболее эффективными являются температуры в диапазоне +24…28°С. При температурах ниже +14°С их эффективность резко снижается. Для грибных биопрепаратов важным условием является влажность для успешного прорастания конидий или спор. Для всех живых клеток губительным является воздействие УФО.

Активный путь подавления численности популяции вредных видов заключается во внесении биопрепарата и может осуществляться двумя способами:

1) однократное внесение препарата в расчете на быстрое размножение микроорганизма-продуцента (энтомопатогена, антагониста фитопатогенов и др.);

2) не менее чем двукратное применение биопрепарата по типу инсектицида, фунгицида и т.д.

Первый способ применения относится к эпизоотийному направлению. Он заключается во введении патогена в популяцию насекомых, ранее не подверженному его влиянию. В этом случае возникает эпизоотия. С большей вероятностью это происходит в лесных биоценозах, а из энтомопатогенов наибольшую отдачу следует ожидать от вирусных патогенов.

Более надежным является второй способ регуляции численности насекомых – по типу биологического инсектицида. Он заключается в 2–3-кратной обработке препаратом с определенной инфекционной нагрузкой. В этом случае получают относительно быстрый эффект сдерживания численности объекта, не дожидаясь развития эпизоотии.

ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ О ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ БИОПРЕПАРАТОВ

Биологические препараты, используемые для защиты растений, по типу продукта в биотехнологической схеме можно разделить на препараты на основе живых клеток и продукты их метаболизма, относящиеся ко вторичным метаболитам.

К вторичным метаболитам относятся антибиотики, алкалоиды, гормоны роста растений и токсины.

Технологию получения биопрепаратов можно также подразделить на биотехнологические процессы, направленные на накопление биомассы микроорганизмов и накопление идиолитов в культуральной жидкости.

В технологической схеме производства принято выделять четыре элемента, слагающих биотехнологический процесс:

1) агент (микроорганизм, фермент, популяция, группа популяций и т.д.), который является основой процесса и отвечает за выделение метаболита, преобразование субстрата или за накопление биомассы которого направлен весь процесс;

2) субстраты и среды, которые преобразуются в процессе или служат основой для накопления биомассы агента;

3) аппаратура, включая оборудование для приготовления питательных сред, стерилизации, выделения готового продукта и придания ему товарного вида;

4) продукт (микробная биомасса, первичные продукты, идиолиты, преобразованная среда для культивации и т.д.).

Биотехнологическое производство принято подразделять на три основные стадии:

– предферментационную, на которой осуществляется подготовка аппаратуры, агента, питательной среды, технологической воды и воздуха и т.д.;

– стадию ферментации – наиболее специфическую стадию биотехнологии в процессе которой происходит преобразование субстрата в продукт;

– постферментационную, на которой происходит выделение, очистка, стандартизация, предобразование в препаративную форму и оценка качества готового продукта.

На настоящий момент наиболее распространенными агентами биотехнологического производства средств защиты растений и биоудобрений являются микроорганизмы.

В целом, процесс производства биопрепаратов можно представить в несколько этапов:

1. получение маточной культуры из музейных пробирок штамма;

2. получение посевного материала из маточной культуры;

3. стерилизация аппаратуры, питательной среды, засев, культивирование и получение биомассы микроорганизмов;

4. «одевание» в препаративную форму;

5. стандартизация и контроль качества готового биопрепарата.

40.Производство аминокислот при помощи микроорганизмов.

Некоторые пищевые и кормовые продукты не содержат в своем составе необходимых количеств незаменимых аминокислот, в частности лизина. К таким продуктам относятся пшеница, кукуруза, овес, рис и ряд других. Для ликвидации возможного дисбаланса аминокислоты используют в чистом виде или вводят в состав комбинированных кормов, выпускаемых промышленностью. Поэтому основной сферой применения аминокислот следует считать создание рационов, позволяющих понизить содержание растительных белков в кормах.Применяются они и при изготовлении ряда полимерных материалов, например синтетической кожи, некоторых специальных волокон, пленок для упаковки пищевых продуктов. Ряд аминокислот или их производных обладают пестицидным действием. Мировой уровень производства аминокислот достигает в настоящее время нескольких миллионов тонн в год. В наибольших количествах в мире вырабатываются L-глутаминовая кислота, L-лизин, DL-метионин, L-аспарагиновая кислота, глицин. **Основными способами получения аминокислот являются следующие: экстракция из белковых гидролизатов растительного сырья, химический синтез, микробиологический синтез растущими клетками, при использовании иммобилизованных микробных клеток или ферментов, выделенных из микроорганизмов**.

**Микробиологический синтез** — в настоящее время весьма перспективный и экономически выгодный способ получения многих аминокислот. В процессе культивирования продуцентов аминокислот непосредственно синтезируются L-аминокислоты. В последние годы прочные позиции начинает занимать комбинированный химико-микробиологический метод синтеза, при котором исходное соединение получают в результате химических реакций, а конечная стадия осуществляется за счет активности ферментных систем соответствующих штаммов микроорганизмов.

Микробиологический метод синтеза аминокислот основан на способности многих микроорганизмов накапливать в среде значительные количества таких продуктов. Среди микроорганизмов, получивших оценку как потенциальные продуценты глутаминовой кислоты, обнаружено много бактерий, ряд дрожжей и других грибов.

Значительно меньше штаммов и в меньшем количестве выделяют аспарагиновую кислоту, лейцин, валин, изолейцин, лизин.Наиболее распространенные продуценты аминокислот—грам- положительныебесспоровые бактерии, относимые к родам *Соrуnebacterium, Micrococcus, Arthrobacter, Brevibacterium*.

**Биосинтез глутаминовой кислоты**

В качестве источника углерода можно использовать глюкозу; крахмал, из технических продуктов — малассу, гидрол (маточник, остающийся после кристаллизации глюкозы). В последние годы получают распространение в качестве углеводного компонента среды углеводороды, этанол, метанол, уксусная кислота. Из источников азота — соли аммония или мочевина. Концентрация соединений углерода в средах при получении глутаминовой кислоты обычно довольно высокая, до 5—10 %. Исходная концентрация источника азота — низкая. При таком соотношении азота к углероду в среде неизбежно понижение уровня рН. Вместе с тем такое соотношение ведет к ограниченному росту биомассы продуцентов и, с другой стороны, к накоплению метаболического предшественника глутаминовой кислоты — 2-кетоглутаровой кислоты. Для включения в реакцию синтеза глутаминовой кислоты, синтезированной продуцентом 2-кетоглутаровой кислоты, в среду периодически вводят источник азота. Один из наиболее подходящих источников азота — мочевина. Последняя разлагается уреазой продуцента с выделением аммиака, вступающего в реакцию с 2-кетоглутаровой кислотой, образуя глутаминовую кислоту. Введение раствора мочевины осуществляется автоматически, когда уровень рН в среде достигает некоторой контрольной величины. Накопление глутаминовой кислоты происходит только тогда, когда рост*Corynebacteriumglutamicum* закончен.

41. Биотехнологическая энергетика. Применение микроорганизмов для получения биотоплива.

Биотехнология вовлечена в разработку способов получения искусственной нефти, а так же получения биогаза из сырья различного происхождения для решения энергетической проблемы. Так, например, некоторые виды грибков превращают нефть, мазут и природный газ в пищевую биомассу, богатую белками. Так, из 100 т неочищенного мазута можно получить 10 т дрожжевой биомассы; содержащей 5 т чистого белка и 90 т дизельного топлива. Столько же дрожжей производится из 50 т сухой древесины или 30 тыс. м3 природного газа.

Биоэнергетика - одно из направлений биотехнологии, связанное с эффективным использованием энергии, запасаемой при фотосинтезе. В результате фотосинтеза растения ежегодно ассимилируют приблизительно 2\*1011 т углерода с энергосодержанием 3\*1021 Дж, что в 10 раз больше годового потребления энергии в мире и в 200 раз больше того количества энергии, которое содержится в используемых человечеством за год продуктах питания.

Следует отметить также, что в процессе фотосинтеза на Земле образуется в пересчете на сухой вес около 155 млд. тонн органической массы, главным образом целлюлозы, которую можно в сыром виде без переработки использовать как топливо (например, для выработки электроэнергии)

Органическое топливо является продуктом фотосинтеза, происходившего в каменноугольный период (300млн лет назад). Топлива тогда были биомассой, поэтому представляет интерес процесс получения энергии из биомассы с использованием живых организмов.

Биомасса - возобновляющееся органическое вещество, генерируемое растениями путем фотосинтеза. Термин биомасса распространяется на все виды веществ растительного и животного происхождения, продукты жизнедеятельности человека и животных, органические отходы.

Биометаногенез - способ производства энергии из биомассы состоит в получении биогаза путем анаэробного перебраживания. Такой газ представляет собой смесь из 65% метана, 30% углекислого газа, 1% сероводорода и незначительного количества азота и водорода. Метановое "брожение", или биометаногенез, -давно известный процесс превращения биомассы в энергию. Он был открыт в 1776 г. Вольтой, который установил наличие метана в болотном газе. Бездымное горение болотного газа причиняет людям гораздо меньше неудобств по сравнению со сгоранием дров и навоза. Энергия, заключенная в 28 мі биогаза, эквивалентна энергии 16,8 мі природного газа, 20,8 л нефти или 18,4 л дизельного топлива.

Биогаз дает возможность использовать самые современные средства теплоэнергетики - газовые турбины, В этих установках газ сгорает, приводя в движение турбину, которая вращает генератор, производящий электроэнергию. В свою очередь газообразные продукты сгорания затем направляются в котел для нагревания воды и получения пара, который может быть использован в промышленности или для дополнительного производства энергии.

Газовые турбины проще и дешевле традиционных паровых. В то время как у последних эффективность не улучшалась с конца 50-х годов, газовые турбины непрерывно совершенствуются.

Наиболее многообещающим вариантом использования биомассы в газовых турбинах является ее газификация при взаимодействии с воздухом и паром при высоких давлениях и очистке газа от примесей, которые могут повредить лопасти турбин. Для повышения эффективности процесс газификации и производство электроэнергии следует смещать в одной установке.

Предварительные оценки показывают, что энергия, полученная на установке с газофицированием биомассы и газовой турбиной, по стоимости может быть сравнима с электроэнергией, производимой на обычных угольных или ядерных электростанциях в большинстве промышленных и развивающихся стран.

Одним из направлений при получении биогаза является использование органических отходов и побочных продуктов сельского хозяйства и промышленности. Производство биогаза в процессе метанового брожения - одно из возможных решений энергетической проблемы сельскохозяйственных районов.

**Биогаз — горючий газ**, образующийся при анаэробном метановом сбраживании биомассы и состоящий преимущественно из метана (55-75%), двуокиси углерода (25-45%) и примесей сероводорода, аммиака, оксидов азота и других (менее 1%).

Свойства метанобразующих бактерий

Метанобразующие бактерии, или метаногены, возникли около 3,0—3,5 млрд. лет тому назад и достигли своего расцвета в архее. Они активно участвуют в деструкции органических веществ в различных экологических нишах: в болотном, речном и озерном иле, в искусственных технических сооружениях — метантенках, в рубце жвачных и пищеварительном тракте ряда других животных.

К наст.вр. удалось выделитьболее двадцати чистых культур метанобразующих бактерий, причем обнаруживаются все новые виды. Среди этих бактерий есть организмы, клетки которых близки к сферическим, образующие агрегаты, похожие на сарцин, ланцетовидные, палочковидные и нитевидные формы. Большинство неподвижны, но отдельные виды проявляют способность к движению в результате наличия жгутиков.

Определителя бактерий Берги группа разделена на три порядка:-Methanobacteriales ,-Methanococcales ,-Methanomicrobiales

Метаногеныне содержатмуреина в липиды не входят жирные кислоты. Большую часть нейтральных липидов составляют простые эфиры глицерина и длинноцепочечного спирта фитанола.

Все метанобразующие бактерии - строгие анаэробы. Некоторые из них мезофилы, другие, растущие при 60-80°С и более высокой температуре, термофилы*.*Оптимальное значение рН для роста разных видов 6,5—8,0. Некоторые штаммы способны расти при наличии в среде до 5—7 % и более NaCI.

Как источник серы бактерии используют сульфид, а как источник азота — аммоний. Но довольно многие из этих микроорганизмов могут расти в автотрофных условиях.

Важная особенность метаногенов — способность активно развиваться в анаэробных условиях в тесном симбиозе с другими группами бактерий, создающими для них благоприятные условия и обеспечивающих необходимыми субстратами для роста и синтеза метана.

Технология получения метана

Технологически метановое брожение подразделяют на два этапа:

-созревание метанового биоценоза

-ферментацию.

В течение первого этапа развиваются бактерии, участвующие в анаэробном разложении исходных органических веществ и продуктов их распада. В результате деятельности этих микроорганизмов создаются оптимальные условия для активного биосинтеза метана.

Метановое брожение жидких органических веществ осуществляется в строго анаэробных условиях при 30—40 °С (мезофильный процесс) или 52—60 °С (термофильный процесс). Ферментацию проводят в реакторах (метантенках) объемом от одного до нескольких тысяч кубических метров. Метантенки выполняются из железобетона или металла. Ферментация протекает непрерывно, полупериодически и периодически.

Сырьё -наиболее распрост. видами отходов АПК (агропромышленный комплекс) , используемыми для производства биогаза, являются:-навоз свиней и КРС, помёт птицы;-остатки с кормового стола комплексов КРС;-ботва овощных культур;-некондиционный урожай злаковых и овощных культур, сахарной свёклы, кукурузы;-жом и меласса;-мучка, дробина, мелкое зерно, зародыши;-дробина пивная, солодовые ростки, белковый отстой;-отходы крахмало-паточного производства;-выжимки фруктовые и овощные;-сыворотка;

***Метановое брожение*** —это процесс распада органических соединений до простых веществ, в результате которого выделяется газ. Жиры и белки в основном разлагаются с высоким выделением метана, а углеводы – с выделением углекислого газа. Смесь этих газов – это биогаз. Процесс разложения происходит в результате жизнедеятельности анаэробных микроорганизмов.

Сбраживание принято делить на стадии:

1. ферментативный гидролиз-органические соединения (белки, [углеводы](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A3%D0%B3%D0%BB%D0%B5%D0%B2%D0%BE%D0%B4" \o "Углевод), [жиры](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%96%D0%B8%D1%80" \o "Жир)), которые присутствуют в [биомассе](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%91%D0%B8%D0%BE%D0%BC%D0%B0%D1%81%D1%81%D0%B0" \o "Биомасса), начинают распадаться на простейшие органические соединения ([аминокислоты](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%BC%D0%B8%D0%BD%D0%BE%D0%BA%D0%B8%D1%81%D0%BB%D0%BE%D1%82%D1%8B" \o "Аминокислоты), [сахара](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A1%D0%B0%D1%85%D0%B0%D1%80" \o "Сахар), [жирные кислоты](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%96%D0%B8%D1%80%D0%BD%D1%8B%D0%B5_%D0%BA%D0%B8%D1%81%D0%BB%D0%BE%D1%82%D1%8B" \o "Жирные кислоты)) под действием [гидролитических ферментов](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D0%B8%D0%B4%D1%80%D0%BE%D0%BB%D0%B0%D0%B7%D1%8B" \o "Гидролазы). Протекает под воздействием [ацетогенных бактерий](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D1%86%D0%B5%D1%82%D0%BE%D0%B3%D0%B5%D0%BD%D1%8B)
2. Кислотообразования-Отдельные молекулы проникают в клетки бактерий( кислотообразующие бактерии), где они продолжают разлагаться. В результате данного процесса образуются необходимые для метановых бактерий анаэробные условия. При уровне рН 6-7,5 вырабатываются в первую очередь нестойкие жирные кислоты, низкомолекулярные алкоголи, двуокись углерода, углерод, сероводород и аммиак.Полученные вещества являются питательной средой для [метанообразующих бактерий](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%B5%D1%82%D0%B0%D0%BD%D0%BE%D0%B3%D0%B5%D0%BD%D1%8B" \o "Метаногены).
3. Ацетогенная стадия. Данный этап является очень чувствительным к изменению температуры. Кислотообразующие бактерии с органических кислот создают исходные продукты для образования метана: уксусную кислоту, двуокись углерода и углерод.
4. На последнем этапе образуется метан, двуокись углерода и вода в незначительном количестве как продукт жизнедеятельности метановых бактерий. 90% всего метана вырабатывается на этом этапе, 70% происходит из уксусной кислоты.

Метановое брожение — процесс эндотермический, требует постоянного подогрева для поддержания необходимой температуры ферментации. Как правило, метантенки и сырье подогреваются за счет сжигания образующегося биогаза. В среднем на поддержание требуемой температуры ферментации расходуется от 15— 20 % (мезофильный процесс) до 30—50 % (термофильный процесс) биогаза. Поэтому одним из важных моментов эксплуатации метантенков является их хорошая теплоизоляция.

Применяются **двухстадийные и одностадийные биогазовые** комплексы.

***Одностадийная технология*** используется для большинства субстратов и такую технологию можно считать базовой. Схема типовой одностадийной биогазовой установки представлена на рисунке 8. Для поддержания температуры необходимой для жизнедеятельности бактерий, метантенктеплоизолируется снаружи и внутри оборудована система подогрева, вмонтированная в стены и днище (1,2). Субстрат для улучшения процесса брожения и предотвращения образования корки постоянно перемешивается при помощи мешалок (3). Выгрузка переброженного субстрата и загрузка метантенка новой порцией субстрата происходит одновременно и в равных долях. Управление работой биогазовой станции производится автоматически (11). Образовавшийся биогаз собирается и хранится в газгольдере (6). Газгольдер в данном случае используется в качестве 21 газонепроницаемого верхнего покрытия метантанка. Внешний купол (7) выполняет защитную функцию от ультрафиолета и поджога, а также чрезвычайно растяжим. Отведение образовавшегося биогаза происходит по трубопроводу (8), оснащенному автоматическими конденсатоотводчиками и предохранительными клапанами. Из газгольдера (6) биогаз подается на когенерационную установку (13). Субстрат после анаэробного сбраживания подается на сепаратор (9), где происходит его разделение на твердые и жидкие биоудобрения.

В последние годы в практику внедряются технологии, основанные на разделении процесса метанового брожения на стадии — фазы: кислотную и метановую. ***Двухфазный процесс*** осуществляется в двух реакторах, соединенных последовательно. Скорость поступления сырья и объемы реакторов рассчитываются так, чтобы в первом протекала только стадия образования кислот, значение рН среды не должно быть выше 6,5. Такая бражка подается во второй реактор, в котором с большой скоростью протекает непосредственно образование метана. Двухфазный процесс позволяет увеличить его общую скорость в два-три раза. Иногда в практике при использовании двухфазного процесса с целью дополнительного получения товарного биогаза процесс брожения в первом ферментере проводят при 35—37 °С, во втором — при 55°С. При нормальных условиях ферментации на каждую тонну сброженногоорганического вещества образуется до 300—600 м3биогаза. Процент разложения органических веществ до метана зависит от скорости процесса и времени выдерживания сырья в реакторе, обычно эта величина равна 30—60 %.

Концентрация метана в образующемся биогазе зависит от химического состава субстрата: углеводы дают больше углекислого газа, жиры—больше метана (до 85 %). Чем больше восстановлен субстрат, тем выше концентрация метана.

В нашей стране метановое брожение широко применяется в системе биологической очистки городских сточных вод на станциях аэрации. В метантенкахсбраживают осадки сточных вод и активный ил, образующийся в аэротенках. Две станции, обслуживающие город с населением 8 млн. человек, дают в год 110 млн. м3 биогаза.

Биотехнологические методы получения биоэтанола топливного назначения.

Основное направление использования биоэтанола – получение смесевых топлив (этанол+бензин) с достаточно высоким энергосодержанием.

Биоэтанол в качестве топлива имеет как очевидные преимущества, так и ряд недостатков. К несомненным достоинствам биоэтанола относятся низкая токсичность и практически полное отсутствие выброса CO в продуктах сгорания, биоразлагаемость, возможность повышения эффективности использования ресурсов сельского хозяйства, снижение зависимости от нефти, снижение парникового эффекта. Основные недостатки этого направления – использование пищевого сырья, высокая стоимость (выше цен на нефть), нестабильные урожаи некоторых источников биомассы, низкая эффективность ферментирующих микробов, гигроскопичность и повышенный расход и низкая теплота сгорания этанольного топлива (по сравнению с нефтяным).

Основное сырье для производства этанола – крахмал и сахаросодержащие с/х культуры. В этом случае получение этанола происходит в процессе ферментации (сбраживания) сырья. Для производства этанола из крахмалсодержащего сырья необходимо разрушить макромолекулярную цепочку этого углевода для получения множества глюкозных звеньев, вместе представляющих собой сироп, который может быть преобразован в этанол при помощи дрожжей. В Северной Америке и Европе в качестве крахмалосодержащего сырья используют в основном кукурузу и пшеницу, в России для производства этилового спирта также используется зерновое сырье. Кроме того, сырьем для производства этанола могут служить сахарный тростник, свекла, клубни картофеля, топинамбура, маниоки, отходы сахарного производства и др.

Существуют **два основных способа** получения биоэтанола: так называемые **«сухой» и «мокрый».**

**«Мокрый» способ** (рис. 1) с применением помола увлажненного зерна включает дополнительную стадию извлечения клейковины и крахмала.Такое фракционирование позволяет получать ценные побочные продукты производства этанола, тем самым повысив эффективность проведения промышленного процесса. Извлечение глютена (клейковины) – белка, чувствительного к температуре, позволяет эксплуатировать дистилляционные установки при повышенной температуре, что позволяет снизить эксплуатационные расходы. Предварительное отделение отрубей и волокон уменьшает расход несбраживаемого материала через дистилляционное и сушильное оборудование, сокращая потребление воды и энергии. Если побочные продукты высушиваются для получения сухой дробины с растворенными веществами –DDGS (DriedDistillersGrainswithSolubles), то сепарация отрубей сокращает энергетические затраты на сушку. Применение мокрого помола позволяет с помощью 3-фазных сепараторов получить фракции крахмала А и В. Крахмал А перерабатывается в глюкозу и другие сахаристые вещества, а крахмал В служит сырьем для производства биоэтанола. Из ростков (зародышей) пшеницы и кукурузы можно извлечь ценные масла, которые пользуются большим спросом на мировом рынке.

После 3-фазного разделения суспензии, полученной затиранием муки с теплой водой, выделенный крахмал B направляется на ожижение. Крахмал нагревают острым паром в разварнике, в результате чего он при совместном действии тепла и альфа амилазных ферментов превращается в гель и ожижается. Α-амилаза расщепляет длинные молекулы крахмала (этот процесс называется гидролизом), превращая крахмал в раствор олигосахаров – мальтодекстрин. Этот раствор подвергаетсяосахариванию, в ходе которого глюкоамилазные ферменты в условиях регулируемой температуры и рН превращают декстрин в пригодную для сбраживания глюкозу. Дрожжи расщепляют глюкозу на этанол и CO2:

C6H12O6 → 2C2H5OH + 2CO2.

Полученная бражка с содержанием спирта около 6–10 % проходит стадию дистилляции и ректификации для очистки и концентрирования. Вначале в бражной колонне из бражки отгоняется смесь этанола и воды. Дальнейшая очистка проводится в ректификационной колонне, где осуществляется максимальное разделение паров спирта и воды вплоть до азеотропной точки. Отделенную барду с низа колонны направляют на разделение (декантацию) и выпаривание для переработки в DDGS, кормовые дрожжи или биогаз. DDGS может быть использована в качестве высококачественного корма для животных; кормовые дрожжи являются высокоценной белковой добавкой в производстве комбикорма, кормосмесей и премиксов для кормления всех видов с/х животных, птицы, рыбы и пушных зверей; биогаз используют в качестве топлива для производства электроэнергии, тепла или пара.

Для получения топливного этанола из азеотропной смеси спирта сырца необходимо удалить воду. Эта операция осуществляется с помощью молекулярных сит, диффузионного испарения через мембрану или азеотропной перегонкой с разделяющими агентами. В конечном итоге выделяется безводный этанол, пригодный для смешения с моторными топливами либо для дальнейшей переработки в ценные химические продукты.

**При использовании «сухого» способа** производства биоэтанола, мука смешивается с водой и полученный затор сразу отправляется на осахаривание, где содержащийся в суспензии крахмал под действием тепла и специальных ферментов превращается в сахара для дальнейшего сбраживания.

Одним из наиболее привлекательных направлений получения этилового спирта является использование в качестве сырья целлюлозосодержащих отходов сельского хозяйства и деревообработки. Главной задачей превращения такого сырья в этанол является предварительная подготовка к ферментации. Для разрушения крепкой структуры лигноцеллюлозного комплекса и удаления лигнина требуется частичный или полный гидролиз гемицеллюлозы и перевод кристаллической целлюлозы в аморфное состояние, пригодное длядальнейшей переработки. В результате гидролиза (превращения полисахаридов сырья в моносахариды) получают гидролизаты (водные растворы органических веществ, главным образом пентоз и гексоз), а также гидролизный лигнин (около 30%). Поскольку на скорость и степень гидролиза полисахаридов влияет размер частиц сырья, его предварительно измельчают.

Гидролиз разбавленными кислотами (например, 0.4–0.7 % H2SO4) осуществляют при 120–190oС и 0.6–1.5 МПа. К достоинствам метода относятся возможность использования влажного непросушенного сырья и проведение реакции без регенерации кислоты вследствие малого ее расхода. Недостатки – высокий расход тепла на проведение гидролиза; значительные потери моносахаридов вследствие разложения в реакционной зоне, высокая степень загрязнениягидролизатов побочными продуктами и непрореагировавшими остатками. Простота этого метода стала определяющим фактором при его выборе в качестве основного процесса в гидролизной промышленности СССР.

Гидролиз концентрированными кислотами (преимущественно 30–41 % НС1, 70–80 % H2SO4) проводится при атмосферном давлении и температуре не выше 60oС. Получаемые гидролизаты содержат большое количество моносахаридов и незначительные примеси. Однако, для проведения процесса требуется более качественное, сухое растительное сырье. Кроме того, для промышленной реализации процесса требуется включение дополнительной стадии регенерации минеральных кислот и применение дорогостоящих материалов, устойчивых к агрессивным средам.

Образовавшиеся моносахариды после отделения от остальных продуктов гидролиза, по аналогии с переработкой крахмал и сахаросодержащего сырья, направляются на сбраживание, полученный этанол подвергают дистилляции и обезвоживанию в молекулярных ситах.

Отечественная лесохимическая промышленность имеет огромный опыт гидролизного производства этилового спирта различными методами. Однако, для создания новых промышленных конкурентоспособных предприятий необходима комплексная оптимизация ведения процесса получения целлюлозного этанола с целью снижения расхода реагентов, увеличения выхода и чистоты получаемых продуктов, также уменьшения негативного влияния на окружающую среду. В настоящее время в ведущих мировых научно производственных центрах ведутся исследовательские и конструкторские работы по реализации в промышленности процесса ферментативного гидролиза целлюлозы.

Биотехнологические методы получения биобутанола топливного назначения.

Бутиловый спирт — продукт брожения некоторый разновидностей маслянокислых бактерий — обнаружен Пастером в 1862 г Бутанол – безопасен в использовании т.к. меньше испаряется, менее агрессивный (можно транспортировать по имеющимся трубопроводам), можно смешивать с бензином или полностью заменить бензин.

Производство бутанола

Промышленное производство ацетона и бутанола началось в 1916 г. (Clostridium acetobutilicum).

В России

В СССР до конца 70-х годов в эксплуатации находились 4 ацетонобутиловых завода. На данный момент в РФ нет ни одного такого производства.

Особенности технологического производства биобутанола 1 поколения.

Ферментация АБЭ с помощью бактерий Clostridium acetobutilicum – один из первых процессов применяемых для промышленной ферментации бутанола.

1)При типичной ферментации АБЭ в начале бактерии Clostridium acetobutilicum производят маслянную (более 2 г/л), пропионовую, молочную и уксусную кислоты (стадия производства кислоты).

2)Затем водородный показатель культуры снижается до рН меньше 5 и таким образом инициируется метаболический сдвиг к стадии производства растворителя. В результате получается бутанол, ацетон, изопропанол и этанол.

При использовании обычной АБЭ ферментации выход бутанола из глюкозы низок: примерно 15% и редко превышает 25%.

Инокулят выращивают при низких значениях рН и в динамических условиях. Для Сl. acetobutulicum первая генерация проводится в среде, приготовленной на 5% сухих злаков и без питательных добавок, при температуре 37°С в течении 24 ч.

Культивируют периодическим и непрерывным способом.

Периодическое выращивание. При периодическом выращивании следят за уровнем источника углерода и рН. Растворители, и в первую очередь бутанол, ингибируют процесс, поэтому при периодическом выращивании редко образуются более 20 кг растворителей в 1 м3.

Чтобы увеличить продуктивность и снизить цены на продукты ферментации, предложено проточное культивирование.

При одностадийном проточном культивировании с низкими скоростями протока можно одновременно достигать роста клеток и максимального превращения сахаров в растворители. Но при низких скоростях разведения, благоприятных для синтеза растворителей, возникает нестабильность процесса и достичь стационарного состояния бывает очень трудно. Для промышленного применения такой проточный процесс не подходит, так как он должен быть стабильным в течение нескольких недель или лучше нескольких месяцев.

Бутанол, полученный из биомассы, принято называть биобутанолом, хотя по своим физическим и химическим характеристикам он никак не отличается от бутанола, произведенного традиционным способом. Отличием является лишь то, что при сжигании биобутанола дополнительного выброса углекислого газа в атмосферу не происходит. Более того, производство биобутанола оправдано и с экономической точки зрения по ряду перечисленных ниже причин:

Биобутанол по своим физическим свойствам близок к бензину, ввиду чего его использование не требует переделки двигателя автомобиля.

Биобутанол может использоваться либо в смеси с бензином, либо в будущем полностью заменить его.

Молекула бутанола состоит из четырех атомов углерода (по сравнению с двумя атомами в этаноле), соответственно, более развитый углеродный скелет молекулы дает больше энергии при сжигании вещества. Кроме этого, бутанол менее летуч по сравнению с этанолом, поэтому его смеси могут на 100% использоваться в двигателях внутреннего сгорания без какой - либо их модификации. Бутанол не настолько гигроскопичен, как этанол, поэтому может транспортироваться по существующим трубопроводным сетям, и он менее чувствителен к пониженным температурам.

Биобутанол обладает меньшей коррозионной активностью по сравнению с этанолом, и его смесь с бензином меньше подвержена расслоению в присутствии воды, ввиду чего, бутанол может транспортироваться по уже существующим трубопроводам.

Бутиловый спирт (бутанол) как и этиловый спирт (этанол) может быть получен:

- путем переработки сахара или крахмала с/х растительных культур (биобутанол I поколения);

- путем переработки целлюлозы растений (биобутанол II поколения);

Биобутанол можно производить из кукурузы, пшеницы, сахарной свеклы, сахарного тростника, сорго и ячменя. В будущем для производства биобутанола можно будет использовать и целлюлозосодержащие компоненты сельскохозяйственных культур, такие как сухие стебли кукурузы или солому.

А так же, бутанол образовывается при сбраживании глюкозы клетками Clostridiumacetobutylicum. При этом вначале выделяется масляная кислота; однако по мере подкисления среды начитают синтезироваться ферменты, действие которых приводит к накоплению ацетона и бутанола.

Процессы образования этих веществ тесно связаны между собой. В результате декарбоксилирования части ацетоацетата утрачивается потенциальный акцептор водорода, который при восстановлении в бутират мог бы дважды присоединить 2[H]. Этот водород так или иначе должен быть передан другим акцепторам, в том числе и только что образовавшемуся бутирату. Для восстановления до бутанола бутират должен быть сначала активирован путем превращения в бутирил-CoA.

Хотя бутанол в основном используются в промышленности в качестве растворителя, есть несколько преимуществ при использовании его в качестве моторного топлива по сравнению с этанолом

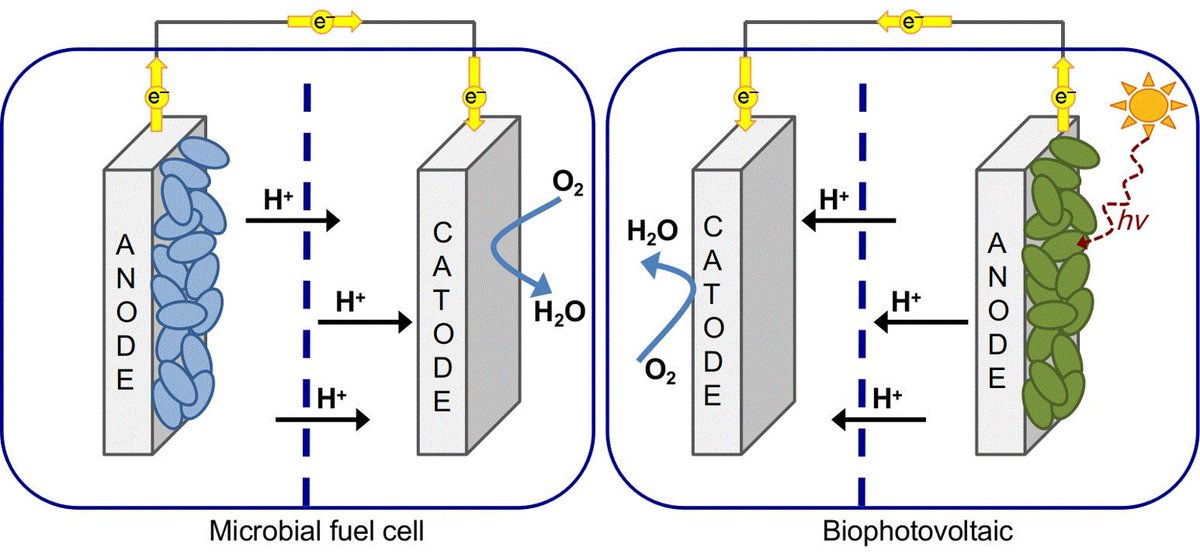
Молекулярный водород считается наиболее перспективным видом топлива. По энергоемкости (в расчете на единицу массы) он превосходит все другие соединения, которые можно использовать в этих целях. Сжигание молекулярного водорода не сопровождается загрязнением среды большим количеством вредных веществ и, более того, ведет к регенерации воды. Водород может храниться, транспортироваться и легко преобразуется в электроэнергию с помощью топливных элементов.

К числу хемотрофов, образующих в значительном количестве молекулярный водород, относится, прежде всего, ряд облигатных и факультативных анаэробных бактерий. Показана также возможность образования молекулярного водорода азотфиксирующими аэробами, например азотобактером. К числу наиболее активных продуцентов Н2 относятся отдельные виды клостридий (например, Clostridium butyricum, C. рerfringens), энергобактерий (Escherichia coli, Citrobacter freundii), Ruminococcus и некоторых других родов.

Анаэробное окисление многими пурпурными бактериями органических веществ и неорганических соединений серы в определенных условиях ведет к образованию ими Н2. Особенно в большом количестве эти микроорганизмы выделяют молекулярный водород в присутствии света. Поэтому данный процесс часто называют фотовыделением водорода.

Более перспективны в данном отношении цианобактерии, поскольку выделение ими Н2 связано с биофотолизом воды (биофотолиз воды — разложение воды на водород и кислород с участием микробиологических систем), которая пока остается наиболее дешевым и доступным субстратом. Не прекращаются работы и с водорослями, так как они также способны выделять Н2 при разложении воды. Предлагается, кроме того, использовать комплексные системы, образующие Н2, в которые входят разные фототрофы или фототрофы и хемотрофы.

Показана также принципиальная возможность получения Н2 из воды с помощью хлоропластов при добавлении к ним гидрогеназы и некоторых других компонентов, хотя скорость выделения водорода и стабильность такой системы невелики. Но исследование образования Н2 подобными модельными системами может помочь созданию аналогичных искусственных катализаторов для преобразования солнечной энергии в молекулярный водород.



***История создания микробных топливных элементов***

Майкл Крессе Поттеру в 1911 г. удалось получить электричество при помощи Saccharomycescerevisiae, но эта работа получила мало освещения.

* В 1931 году Барнетт Коэн создал микробиологические топливные элементы (МТЭ), которые, будучи соединены последовательно, были способны производить более 35 вольт при токе всего в 2 миллиампера.
* В исследовании DelDucaetal. в качестве реагента на аноде водородно-воздушного топливного элемента используется водород, получаемый при ферментации глюкозы Clostridiumbutyricum.
* Suzukietal. в 1976 году повторил опыты DelDucaetal. и получил стабильную культуру Clostridiumbutyricum и микробный топливный элемент.
* В конце 1970-х годов мало что было известно о том, как функционируют микробные топливные элементы. Эта концепция была изучена Робином М. Алленом, а затем Х. Питером Беннетто.
* В мае 2007 года Университет Квинсленда, Австралия, завершил разработку прототипа МТЭ в сотрудничестве с пивоваренной компанией Foster'sBrewing. Прототип, 10-литровый топливный элемент, преобразовал сточные воды пивоварни в углекислый газ, чистую воду и электричество.

**Микробный топливный элемент (МТЭ)**

это устройство, которое преобразует химическую энергию в электрическую под действием микроорганизмов.

Микробные топливные элементы представляют собой электрохимические устройства, которые используют преимущества метаболических процессов микроорганизмов. Устройство непосредственно превращает органические вещества в электрическую энергию с высокой эффективностью в течение длительного периода времени.

По сравнению с другими процессами преобразование биоэнергии (анаэробное сбраживание, газификация, брожение) микробные топливные элементы имеют преимущество уменьшенных количеств отходов, а также экономически эффективной работы, так как они работают в условиях окружающей среды (температура, давление).

Кроме того, микробные топливные элементы не требуют затрат энергии на аэрацию в связи с пассивным газированием, например, с помощью использования однокамерного устройства.

* Эти электрохимические ячейки строятся с использованием либо биоанода, либо биокатода. Большинство МТЭ содержат мембрану для разделения отсеков анода (где происходит окисление) и катода (где происходит восстановление).
* Электроны, образующиеся при окислении, переносятся непосредственно на электрод или на редокс-медиатор. Поток электронов перемещается к катоду. Баланс заряда системы поддерживается ионным движением внутри клетки, обычно через ионную мембрану. Большинство МТЭ используют органический донор электронов, который окисляется для получения CO2, протонов и электронов. Сообщалось и о других донорах электронов, таких как соединения серы или водорода.

В катодной реакции используются различные акцепторы электронов, чаще всего кислород (O2) или водород. Другие изученные акцепторы электронов включают восстановление металлов, воды до водорода, нитратного восстановления и сульфатного восстановления.

***Электроактивные микроорганизмы***

* Эти микроорганизмы образуют биопленки на поверхности анода – анодофилы.
* При анаэробном дыхании они используют анод как конечный акцептор электронов.
* Наиболееизученны - *Shewanellaputrefaciens, Geobactersulfurreducens, Geobactermetallireducens* и *Rhodoferaxferrireducens.*
* *Shewanella, Rhodoferax* и *Geobacter,* принадлежащие к группе металл-восстанавливающих микроорганизмов, получают энергию в виде АТФ при анаэробном окислении органики, сопровождаемом диссимиляционным восстановлением оксидов металлов в осадках и металлических конкрециях. Электроны переносятся клеткой на нерастворимый твердый акцептор (например, Fe203) при прямом контакте клетки с поверхностью металла. В МТЭ терминальным акцептором служит анод, замещая природные оксиды металлов.

***Применение МТЭ***

Британскими учеными из университета Западной Англии разработан робот, который может автономно существовать за счет получения энергии от МТЭ. Первая модификация робота, названная EcoBot I, использовала МТЭ, работающий на сахарозе. Энергия запасалась в конденсаторах, и робот функционировал в пульсирующем режиме. Вторая модификация робота EcoBot II была снабжена восьмью МТЭ, обеспечивающими связь, сенсорику и работу компьютера. Для получения энергии в МТЭ был использован хитин обычных домашних мух, которые, привлекаемые феромонами, попадали в ловушки со специальными насосами. Для поддержания энергии робота на протяжении 5 дней было достаточно восьми мух среднего размера. Применение таких роботов перспективно в удаленных, сильно загрязненных или опасных местах, так как они могут автономно функционировать в течение длительного времени там, где не может присутствовать человек.

42. Биогеотехнология: основные технологии и перспективы применения.

Это наука об извлечении металлов из руд, концентратов, горных пород и растворов под воздейств. м/о или их метаболитов при норм. р и t. Составными ее частями яв-ся:1) биогидрометаллургия; 2) обогащение руд; 3)биосорбция металлов из растворов. **Бактериальное выщелачивание Ме** – извлечение отд. химич. элементов из руд, концентратов и горн. пород при помощи бактерий и их метаболитов. Оно совмещается с выщелачиванием Ме слаб. р-ми Н2SО4 бактериал. и химич. происх-я, а также р-ми, содерж. Fе3+, орг. к-ты, белки, пептиды, полис-ды. В основе выщелая-я – процесс окисления (растворения)из нерастворимого в растворимое состояние. Кроме бактерий могут принимать участие и др. м\о, но их прим-е изуч-но недост-но, поэт обычно говорят о бактериал. выщел-ии Ме - *Tiobacillus ferroxidans,* *Leptospirillum ferroxidans, Sulfobacillus thermosulfooxidans*,–– облигат. Автотрофы, Г(+) палочки, аэробы.Кучное и подземное выщелачивание. Бактер. выщел-е цвет. Ме проводят из отвалов бедной руды (кучное), из рудного тела в месте залегания руды (подземное). Схема: орошение руды в отвале или в рудном теле, осущ. водн.рас-ми Н2SО4,содерж. Fе3+ и бактерии (Tiobaccilus ferroxidans и др.). Р-р подается через скажины при подземном или путем разбрызгивания на пов-ти при кучном выщелач-ии. В руде в присут-ии О2 и бактерий сульфидные минералы окисляются, а Сu и др. Ме **.** перех-т из нерастворим. соед-й в растворимые. Р-р, содерж. Сu, пост-т на установки (сорбция, экстракция) для ее извлечения, а затем опять на отвал. Т.о. схема замкнутая.Чановое выщелачивание. Бактер. выщел-е упорных сульфидных концентратов провод-ся прямоточно в серии послед-но соед-х чанов с перемеш-ем и аэрацией при 300С д/мезофиллов и от 40-50 до 70-800С д/термофилов. Схема замкнутая. Оборотные растворы после частичной регенерации использ-ся в качестве питат. среды д/бактерий и выщелачиваемого р-ра. рН 1,7-2,2. Напр., перер-ка олово- и золотосодерж. конц-в (окис-ся пириты FeS2 до олов. конц-в), выщелач-е урана, обессер-е углей). **Микробиологич-е извлечение Ме из р-ов.** Конечная стадия – извлечение Ме из рас-в. Важнейш. задача в н.в.- очистка от Ме промышл.стоков. Наметились нов. направления-основан. на способ-ти м/о сорбировать или осаждать ионы Ме. Известны след. процессы: биосорбция, осажд-е Ме виде сульфидов, восстановление 6-валентн. Сr.Процесс бактер. извлечения сульфидов изв-н давно. Сульфатредуцирующ. бак-ии обр-т при этом Н2S, прак-ки полн-ю осаждающ. металлы из рас-в. Практич. прим-е нашел процесс восст-я 6валентн. хрома в рас-х. Изв-ны м-мы, к-е в анаэроб.усл-х восст-т его до трехвалентн., послед. затем осажд-т в виде Сr(ОН)3. Процесс идет при рН 8-9, в кач-ве ист-ка орг. в-в для бак-1 можно исп-ьб хоз-быт. сточ. воды.Нов. подход- биосорбция. С помощью бак-1, мицелиал. грибов, дрожжей и водорослей можно получить до 100% свинца, ртути, меди, цинка, никеля, кобальта, марганца, хрома, урана, до 96-98% золота и серебра, до 84% платины, 93% селена. Ме из р-ов накапл-ся в биомассе, причем возм-ти грибов опр-ся наличием хитина и пол-ем из него хитозана. Способы прим-я биосорбентов различны. Это созд-е биофильтров с жив. м-ми, где носитель уголь. В Чехии исп-т биосорент М, в состав к-го вх-т мицелий пеницилум хризогенум. К достоинствам таких биофильров, вкл-х м-мы, отн-ся их широк. прим-е в прир. усл-х.

43. Экологическая биотехнология.

Отходы деятельности в области сельского хозяйства, лесной и пищевой промышленности можно использовать в различных целях, для получения энергии с одновременным увеличением биомассы и уменьшением загрязненности окружающей среды. Их также можно при помощи микроорганизмов разлагать до сбраживаемых соединений или превратить в белки. Культивирование водорослей в сточных водах, способствует не только очистке этих вод, но и получению биомассы, богатой белками и микроэлементами.

***1. Микроб. деградация и конверсия отходов в крм. прод-ты, энергет. сырье, удобрения, технич. белок, липиды.*** Переработке могут подвергаться огромные количества отходов и побочных продуктов. Побочные продукты и отходы, содержащие углеводы, можно переработать путем традиционного микробного брожения. Напр., меласса, содержащий помимо сахара сульфиты, карбонаты и соли кальция и магния. Однако при брожении мелассы используется не весь остаточный сахар. Крахмал составляет около 50% сухого веса зерен злаков, картофеля и маниока. Он легко подвергается кислотному или ферментативному гидролизу, в результате чего получаются декстрины и глюкоза. Они используются для ферментационного производства спирта и фруктозного сиропа. Гемицеллюлозы охватывают группу полисахаридов, связанных с целлюлозой. При гидролизе гемицеллюлоз, в частности ксиланов, образуются пентозы, главным образом ксилозы. Обнаружили анаэробную бактерию, *Thermobacteroides saccharolyticum*, которая при температуре выше 40° С вызывает деградацию гемицеллюлоз. Среди полученных конечных продуктов были этанол и молочная кислота. После превращения ксилозы в ксилулозу последняя может сбраживаться в спирт при участии *Saccharomyces cerevisiae*. Что касается гидролиза целлюлозы в глюкозу, то его можно провести при помощи *Trichoderma reesii*, целлюлаза которой разрушает кристаллическую и нерастворимую целлюлозу.

***2. Подходы к решению проблемы очистки водоемов от разливов нефти и различных углеводородов.*** В бактериях, относящихся к роду Pseudomonas, имеются оксиредуктазы или гидроксилазы, способные разлагать большое число молекул углеводородов и ароматических соединений, часто высокотоксичных (бензол, толуол, ксилол). В случае некоторых штаммов *Pseudomonas putida* гены, кодирующие эти ферменты, находятся в составе плазмид. Известны четыре такие плазмиды: ОСТ (разложение октана, гексана и декана), XYL (разложение ксилола и толуола), САМ (разрушение камфоры) и NAH (разложение нафталина). Был получен штамм содержащий все эти плазмиды в одной клетке. Он способен быстро расти на не очищенной нефти, т.к метаболизирует углеводороды активнее, чем один из штамов содержащих только одну плазмиду. Разработали технологию ускоренного размножения живущих в море бактериальных видов, которые способны разлагать углеводороды. Для ускорения биоразложения загрязненная поверхность покрывалась микроэмульсией, содержащей инкапсулированную смесь углерода, азота и фосфора. Как оказалось, добавление этих веществ стимулировало размножение полезных бактериальных штаммов. Преимущество биологического процесса состоит главным образом в том, что он не вызывает появления нового загрязняющего агента в окружающей среде. ***3. Проблема биологической деградации пестицидов***. Некоторые микробы способны изменить молекулу таким образом, что она затем разлагается под действием других микробов. Разрушения сильного высокотоксичного инсектицида, паратиона, под действием двух штаммов *Pseudomonas (P. aeruginosa и P. stutzerij.* Часто результатом химического превращения токсичной молекулы является не полное разложение, а детоксификация: фосфорилирование, метилирование, ацетилирование и т. д. Ферменты, кат-е реакции детоксификации, часто кодируются генами, находящимися в составе плазмид. Удалось получить микробную культуру, способную полностью метаболизировать 2,4,5-Т (2,4,5-трихлорфеноксиуксусную кислоту), которая явл. сильным гербицидом. Выделили на очистных станциях несколько м/о и смешали их с др м/о, содержащими ряд плазмид с генами Е разложения орг. соединений (толуола, ксилола, хлорпроизводных и салицилатов).

44. Источники ферментов. Методы выделения и очистки ферментов.

**Фементы** - это белки, выполняющие роль катализаторов в живых организмах. Основные функции ферментов - ускорять превращение веществ, регулировать биохимические процессы, в т.ч. в ответ на изменяющиеся условия. 6  классов ферментов: Оксидоредуктазы, Трансферазы, Гидролазы, Лиазы, Изомеразы,  Лигазы. Достоинства ферментов: нетоксичность, работают в мягких условиях, не требующих высоких температур, используют доступное сырье (часто отходы).

Ферменты обычно выделяют из биолог. объектов. Источниками могут быть ткани растений, животных, а также м/о. Ферментами очень богата поджелудочная железа и слизистая оболочка желудка. Поэтому эти отделы при переработке мяса используют для выделения протеаз, амилаз, липаз. Некоторые ферм-ные препараты обладающие гидролитической активностью на промышленном уровне выделяют из  растительных тканей (папаин из дынного дерева).

Источниками ферментов для промышленных целей служат м/о. Для того, чтобы выделить фермент из биолог. объекта необходимо знать локализацию фермента в нем: 1) внутриклеточные(протеинкиназа, попаин, глюкоизомераза); 2) внеклеточные; 3) мембраносвязанные ферменты, внутри мембраны и  клеточной стенке.  
 **Выделение ф.** Для того чтобы выделить фермент, сначала получают культуральную жидкость. При выращивание биолог. объекта, фермент может оказаться внутри клетки, вне ее, или в мембране клетки. Если это внеклеточ. ф-т, то все сводится к тому, чтобы вырастить культуру, которая в дальнейшем будет секретировать вне клетку фермент. Клетки отделяют от культуральной жидкости и выделяют ф-т. Если же фермент оказался внутри клетки или в мембране, то после выращивания, для того чтобы выделить ф-т, надо клетку дезентегрировать.  **Способы дезентегрирования**:1) механические (баллестический);2) физические (осмос, плазмолиз, ионизирующие излучение, УФ, УЗ температура); 3) химические **.** ( обработка кислотами, щелочами, солями, орг. раст-ми, ПАВ, сдвиг pH); 3. энзимотические ( обработка литическими ф-ми - лизоцим); 4. биологические (действие фагов, антибиотиков).

1стадией разрушения тканей и клеток и выделение ф-тов, является получение гомогената.  Для этого кусочки ткани размельчают, помещают в ступку и добавляют кварцевый песок, размешивают до получения однородной массы. Затем центрифугируют, отделяют супернотан,  и из него выделяют и очищают ф-т.

Для получения ферментных экстрактов можно использовать буферные растворы, растворы солей, воду, смесь глицерина с водой или орган. растворы (ацетон и спирт).

Также для выделения и очистки ф-тов используют следующие методы: 1)мембранный ( разделение растворенного вещества из раствора основано на применение материалов с определенными размерами пор, т.е. материалов обладающих избирательной способностью) 2) обратный осмос и ультрафильтрация (  имеется сосуд с проницаемой перегородкой для растворителя, но не для растворенного вещества) 3) хроматографические 4) электрофорез ( основано на различие подвижности  заряженных белковых молекул под действием электрическогополя).

**Метод высаливания**. Обычно с помощью сернокислого аммония, добавляемого к исследуемому раствору в возрастающих количествах. Ферментный раствор насыщают. Осадки оделяют и получают ряд белковых фракций, которые исследуют на наличие в них того или иного фермента. Для очистки ферментов применяют водорастворимые полимеры. Их применение основано либо на осаждение ферментов полимерами (полиэтиленгликоль), либо на избирательной распределение ферментов в водных растворах 2-х несшивающихся полимеров (декстран, полиэтиленгликоль).

**Хроматографические методы очистки*. 1. Адсорбционная хроматография*** – основана на различие в адсорбционных свойствах компонентов разделяемой смеси. 2. ***Распределительная хроматография***. Основано на различии в коэффициентах компонентов разделяемой смеси между двумя несмешивающихся (или частично) жидкостями, в которых компоненты растворяются, причем одна из жидкостей (неподвижная фаза) удерживается твердым носителем (инертным). Растворитель (подвижна фаза) продвигается через неподвижную фазу и увлекает разделяемые вещества, находящиеся на носителе. **3**. ***Гель - хроматография***. Некоторые полимеры обладают способностью содержать значительное количество прочного связанного растворителя.Если этот неполярный растворитель, то гель называется гидрофобным, а если вода – гидрофильным. Растворенные вещества распределяются в зависимости от размеров их молекул и размеров пор геля между растворителем, играющим роль подвижной фазы, и тем же самым растворителем, содержащимся в геле (стационарная фаза). Таким образом, разделение осуществлено способностью растворенных частиц проникать в поры геля, т.е. различной способности их к диффузии. **4**. ***Ионообменная хроматография*** – это обратимый обмен ионов, содержащихся в растворе, на подвижные ионы вещества называемых ионитами или ионообменниками. Разделение смеси содержащихся в растворе ионов основано на не одинаковой способности их к обмену с ионами ионита. Ионообменники – это нерастворимые высокомолекулярные соединения, содержащие способные к ионизации функциональные группы и дающие с ионами противоположного заряда нерастворимые соли. В зависимости от характера ионизирующих групп иониты разделяют на катиониты и аниониты. Существуют также амфолиты – способные осуществлять одновременный обмен катионов и анионов. **5**. ***Афинная хроматография***. Многие биологически активные соединения – ферменты, лектин имеют исключительную способность специфически и обратимо связываться с другими веществами, которые принято называть лигандами (антитело – антиген). Будет адсорбироваться только вещество, имеющее сродство к данному лиганду. Остальные же вещества будут проходить через колонку.**6**. ***Электрофорез и изоэлектрофокусирование***. Различии подвижности заряженных белковых молекул под действием электрического поля. Для проявления белков после электрофореза их фиксируют уксусной или трехуксусной кислотами и окрашивают кумаси, амидочерным или другими белковыми красителями

М***етод изоэлектрической фокусировки*** белков, - ферменты разделяются за счет различий их изоэлектрических точек. Фракционирование белков проводят в колонке, заполняют синтетическими амфолинами – смесью алифатических полиаминов поликарбоновых кислот. Под действием электрического поля амфолины распределяются по высоте колонки в строго определенной последовательности и создают линейный градиент рН. В электрическом поле колонки молекулы внесенного в ее белка перемещаются к аноду или катоду. При этом они проходят зоны с различными значениями рн. В зоне, где рН точно соответствует значению изоэлектрической точки белка, его молекулы становятся электронейтральными и их движение прекращается – белок фокусируется. **8.** В процессе выделения ферментов проводят их ***концентрирование***, т. е. удаление низкомолекулярных примесей. Наиболее эффективными методами являются диализ и ультрафильтрация. УФ – это фильтрация под давлением через мембраны, действующим как молекулярный фильтр. Для концетрирования используют лиофильную сушку, выпаривание в вакууме и т.д.

45. Кинетика ферментативных реакций. Фермент-субстратный комплекс. Уравнение Михаэлиса-Ментен. Константа Михаэлиса и ее физический смысл.

Анри и Браун высказали мысль о том, что ферментативные реакции идут за счет взаимодействияия Е с субстратом S с образованием комплекса, в результате которой образуетсяся Р и высвобождается Е.

В первой реакции устанавливается равновесие и оно нарушается высвобождением Е из комплекса [ESo] в направлении k+2. Тогда на перв. стадии KS = 1/ kP = [E] [S] / [ES] (1)– const распада [ES] и связан с ост. конст-ми урав-ем:KS=k-1/k+1. K+1 [E][S] = k—1 [ES] + k+2 [ES].

ν =k+2 Eo So / (Кm + [S]) – ур-е Холдейна-Бригса, более известное как ур-е Михаэлиса-Ментена.

КМ – константа Михаэлиса: КМ=(k-1 +k+2)/k+1.

Оно хорошо описывает экспер-ые данные по кинетике ферментативных реакций. Чаще его применяют в дифференц форме, т.е. находят νо по начальной конц S и исходной конц Е.

νо = k+2 Eo Sо / (kм + [Sо]). Это объясняется тем, что в ходе реакции могут появляться дополнит. эффекты тормозящие процесс реакции и они могут искажать ход процесса.

1) при малых конц S когда km > [So], νо = k+2 Eo / kм . 2) если конц S большая So >> km, то νо = k+2 Eo – max ν = νm, 3) если km = So, то νо = ½ νm, km показывает сродство Е к S или меру насыщения фермента субстратом.

Тогда Vm = k+2[E]0 .

Если V0=1/2 VM, то [s]0=KM. .

Константы этого уравнения характеризуют активность фермента и его сродство к данному субстрату, поэтому целью кинетического исследования является прежде всего нахождение значений VM и КM . наиболее простое такое исследование выполняется в виде серии экспериментов при постоянной концентрации фермента [E]0 и изменяющихся начальных концентрациях субстрата [s]0.

Физический смысл Км заключается в том, что она представляет собой константу равновесия между двумя реакциями, приводящими к распаду фермент-субстратного комплекса и той реакцией, которая ведет к образованию этого комплекса. Ks - субстратная константа. Характеризует константу равновесия 1-го этапа ферментативной реакции. Следовательно, Км обычно тоже довольно близка к Кs. Следовательно, Км, как и Кs, характеризует сродство субстрата к данному ферменту. Но экспериментально определить k-1 и k+2 очень трудно, поэтому трудно определить и Кs. А вот Км можно просто определить, используя координаты Лайнуивера-Бэрка.

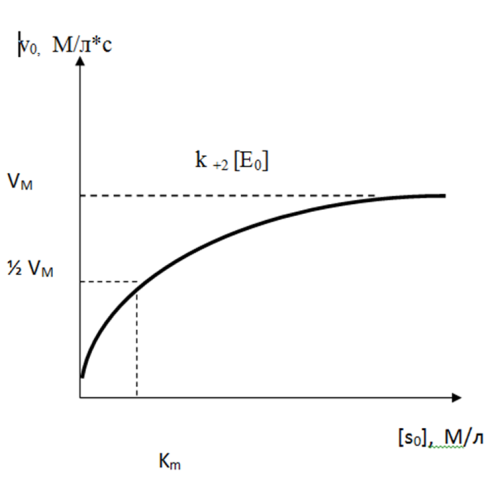


Рис.1.15. Графическое уравнение зависимости начальной скорости v0 ферментативной реакции от начальной концентрации субстрата [s0].

46. Методы иммобилизации биокатализаторов.

**Иммобилизация** – перевод фермента в фиксированное на или в носителе состояние с сохранением max возможной каталитической активности. Для иммобилизации ферментов используют органические и неорганические носители, к ним предъявляют следующие требования: 1) высокая химическая и биологическая стойкость, 2) высокая механическая прочность, 3) достаточная удельная поверхность, пористость, вместимость, 4) возможность получения в удобных формах (гранул, мембран), 5) доступность и дешевизна, 6) возможность быстрой активации, 7) гидрофильность (не всегда). *Органические* делят на природные и синтетические. Природные дорогие, многие не устойчивы при высокой температуре, не устойчивы к м/о. Это полисахариды и белки. Полисахариды: целлюлоза, декстран, агароза, агар-агар, альгиновые кислоты и их соли, альгинаты, крахмал, каррагинаны. Белки: кератин, фибрин, миозин, коллаген, сывороточный альбумин. Синтетические – полимеры на основе акриловой кислоты: акриламид, используют ПААГ (полиакриламидный гель); носители на основе поливинилового спирта; полиуретановые носители. Для того, чтобы носитель мог удержать фермент, его переводят в *активное состояние*, т.е. проводят химическую реакцию, в результате которой на поверхности носителя образуются функциональные группы. Иногда используют для иммобилизации фосфолипиды. Неорганические носители: макропористые стёкла, силикагель, глина, пористая керамика, кремнезёмы.

**Физическая иммобилизация** – без образования химической связи. ***1. Адсорбционная иммобилизация***–фермент удерживается на пов-сти носителя с помощью электростатических или водородных связей. Статический способ–носитель вносят в забуференный раствор фермента и оставляют без перемешивания. Идёт адсорбция ф-та на пов-сти носителя, процесс длительный. Способ с перемешиванием – также + перемешивание и удаляют буферную жидкость центрифугированием. Метод электроосаждения – фермент имеет заряженные группировки на поверхности. В раствор фермента погружают электроды, на поверхность одного из них – слой носителя, при пропускании электрического тока будет идти осаждение фермента на носитель. **2**. ***Иммобилизация включением в гели****.* Для проведения иммобилизации в органические гели готовят реакционную смесь из следующих компонентов – фермент, мономер, и при необходимости сшивающий агент, водный буферный раствор. Часто еще добавляют вещества, предохраняющие фермент от инактивации при гелеобразовании. Готовую смесь подвергают воздействию какого-либо фактора инициирующего процесс полимеризации мономера. В настоящее время широко применяют метод иммобилизации биокатализаторов путем включения в полимерную матрицу из фотополимеризующихся смол (полимеры-макромономеры). Во время иммобилизации раствор, содержащий смолу, катализатор и инициатор облучают несколько минут УФ-лучами. Фоточувствительные группы образуют между собой ковалентные связи, и возникает сшитые 3-х мерная полимерная сетка и включением в нее молекулами биокатализатора.***3. Иммобилизация с использованием мембран и волокон*.** ***Микрокапсулирование.*** В отличие от других методов иммобилизации, при микрокапсулировании главным является удержание раствора, а не создание физических и химических сил, необходимых для иммобилизации. Т.е. иммобилизуется целиком исходный раствор, содержащий биокатализатор, а не отделенные молекулы или клетки. Суть метода состоит в том, что водный раствор фермента включает внутрь микрокапсул, представляющее собой замкнутые сферические пузырьки с тонкой полимерной сеткой. Включение в мембраны и волокна. Метод включения в волокна от микрокапсулирования отличается в основном формой полученных препаратов – образуются нити. Эмульсию водного раствора фермента в органическом растворе волокнообразующего полимера (производные целлюлозы, поливинилхлорид и т.д.) продавливают через прядильное устройство (фильтр) в коагулирующую жидкость (толуол). Полученные волокна представляют собой пористые полимерные гели, содержащие гомогенную дисперсию небольших капель водного раствора фермента. Хорошим материалом в качестве носителя ферментов являются липиды. Известно, что липиды обладают ярко выраженными гидрофобными и гидрофильными свойствами. Т.е., они могут образовывать моно и бислои, сферы (липосомы). ***4. Иммобилизация с использованием двухфазных систем.*** Фермент растворяется в одной из фаз двухфазной системы. Субстрат и продукт распределены между несмешивающимися жидкостями (продукт оказывается в той фазе, где нет фермента, а субстрат находится в фазе с ферментом). После окончания процесса фазу с продуктом отделяют и выделяют сам продукт, а фазу с ферментом используют вновь. Используют воду (в ней фермент) и органический неполярный растворитель (в нём продукт).

**Химические методы** – образуются химические связи между мол-ми фермента и носителя. Существует 3 варианта: 1) фермент присоединяется непосредственно к носителю, 2) фермент присоединяется к носителю через сшивку (сшивка – посредник) (этот способ применяют, когда непосредственный контакт фермента с носителем нежелателен), 3) к ферменту присоединяется много бифункциональных сшивок, к ним в свою очередь присоединяются другие молекулы фермента с множеством сшивок по поверхности, таким образом образуются агрегаты сетчатой структуры (трёхмерная сеть) (фермент выступает одновременно и в качестве носителя) (амидная связь, -S-S, карбамидная).

47. Кинетика катализа иммобилизованными ферментами.

Даже если предполагается однократное применение ферментного препарата, его закрепление на нерастворимом носителе (иммобилизация) является желательным, а иногда и необходимым условием конечного успеха. Это связано с тем, что иммобилизация обеспечивает требуемое постоянство активности фермента в процессе его хранения и использования. Поскольку все измерения концентрации ингибитора опираются на результаты двух измерений активности — до и после контакта фермента с ингибитором — устойчивость фермента является более важным фактором, чем при определении субстратов.

Уравнения кинетики ингибирования ферментов, приведенные выше, справедливы в том случае, если кинетика ферментативной реакции подчиняется уравнению Михаэлиса—Ментен и не осложнена торможением переноса реагентов. Иммобилизация фермента приводит к значительному возрастанию влияния различных процессов массопереноса в белковой пленке, поэтому сказать априори о применимости критериев обратимости ингибирования и способах линеаризации градуировочных зависимостей определения ингибиторов невозможно

В процессе иммобилизации отдельные виды взаимодействий могут менять третичную и четвертичную структуры белка, например, при образовании монослоя ковалентных связей на поверхности некоторых преобразователей при применении частично денатурирующих реагентов.

Если речь не идет о монослойном заполнении поверхности сенсора, слой иммобилизованного фермента на носителе можно представить как однородную среду с вязкостью, значительно превышающей вязкость водного раствора. В этом случае для низкой активности фермента, типичной для ферментативных методов определения ингибитора, можно использовать концепцию реакционного слоя, полагая, что все превращение субстрата происходит исключительно в пределах ферментсодержащего слоя, а за его пределами концентрации реагентов постоянны.

Строго говоря, такое рассмотрение не предусматривает распространенных случаев неферментативного превращения субстрата, а также специфического накопления субстрата или ингибитора на материале носителя фермента. Тем не менее оно оказывается вполне достаточным дня изучения поведения большинства биосенсоров, предназначенных для определения ингибиторов.

В зависимости от соотношения скоростей переноса субстрата в мембрану и его ферментативного превращения можно выделить два предельных случая — два режима функционирования фермента на материале носителя, отличающихся стационарным распределением субстрата в мембране: кинетический и диффузионный.

Кинетический режим. Скорость переноса субстрата в мембрану выше скорости ферментативного превращения субстрата. В этом случае величина отклика определяется исключительно кинетическими параметрами ферментативной реакции, в том числе присутствием ингибитора, снижающего скорость превращения субстрата. Кинетический режим наблюдается при низкой удельной активности иммобилизованного фермента, небольшой толщине мембраны и отсутствии торможения переноса субстрата на границе раздела мембрана-раствор.

Диффузионный режим. Активность фермента высока, диффузионный перенос не компенсирует полностью убыли концентрации субстрата в ферментативной реакции. В результате ферментсодержащая мембрана как бы не насыщена ферментом, часть активных центров остается свободной. Отклик мембраны определяется градиентом концентрации субстрата и остается постоянным при колебаниях активности иммобилизованного фермента, пока снижение активности не приведет к переходу в кинетический режим реагирования. Диффузионный режим наблюдается при высокой удельной активности фермента, при торможении переноса субстрата (например, использовании дополнительных покровных мембран

В диффузионном режиме реагирования чувствительность определения ингибиторов ниже, нежели в кинетическом. Снижение концентрации активных центров фермента в результате взаимодействия с ингибитором частично компенсируется вовлечением в ферментативную реакцию свободных активных центров, ранее в процессе не участвовавших. Это происходит независимо от того, обратимый или необратимый ингибитор взаимодействует с ферментом.

Диффузионный и кинетический режимы функционирования иммобилизованного фермента являются предельными случаями. Между ними находится обширная переходная область, в которой наблюдаемый отклик является функцией и кинетических параметров ферментативной реакции, и коэффициентов диффузии реагентов.

Для необратимого ингибирования в предположении отсутствия спонтанной реактивации снижение отклика иммобилизованного фермента после стадии инкубирования можно описать, не вводя в математическую модель дополнительных уравнений. Инкубирование обычно достаточно продолжительно для того, чтобы ингибитор равномерно распределился в мембране, так что снижение скорости ферментативной реакции можно рассчитать, используя градуировочные кривые субстрата, рассчитанные для меньших значений констант скорости А;р к2. Поведение иммобилизованного фермента после ингибирования при этом аналогично тому, которое бы наблюдалось в случае, если для приготовления мембраны взяли меньшее количество фермента. Для обратимого ингибирования математическое моделирование отклика значительно усложняется. Прежде всего это связано с появлением дополнительных кинетических параметров (Kjy а, р). Кроме того, сложности вносит необходимость учета конечной скорости переноса ингибитора в мембрану.

Вследствие этого оценка кинетических параметров ингибирования по данным, полученным с помощью иммобилизованных ферментов, производится в предположении выполнимости формальной кинетики гомогенного ферментативного катализа, т.е. в отсутствие диффузионного торможения реагирования. Лучше всего для этого подходят устройства, в которых фермент иммобилизован на поверхности преобразователя сигнала без дополнительного носителя.

Косвенным свидетельством отсутствия диффузионных ограничений является выполнимость уравнения Михаэлиса—Ментен. В частности, для оксидоредуктазных амперометрических биосенсоров, если принимать в качестве меры скорости ферментативного процесса силу тока (7) восстановления продукта (хинона или окисленной формы медиатора для тирозиназы, пероксидазы), градуировочная зависимость для субстрата линеаризуется в двойных обратных координатах I Cs'\ аналогично уравнению Лайнуивера—Берка.

Отрезок, отсекаемый при этом на оси абсцисс, интерпретируется как Кт~'. Исходя из этого можно установить тип ингибирования, определяя константу Михаэлиса при различных концентрациях ингибитора. Градуировочный график определения концентрации обратимого конкурентного или неконкурентного ингибитора при постоянной концентрации субстрата линеаризуется в координатах 7-1 — С,, при этом по отрезку, отсекаемому на оси абсцисс, оценивают константу ингибирования К(.

Иногда вместо прямого аналитического сигнала иммобилизованного фермента, например в составе биосенсора, предпочтительнее использовать степень ингибирования иммобилизованного фермента (У). Тогда появляется возможность применять в расчетах данные, полученные для различной начальной активности иммобилизованного фермента. Если рассматривать степень ингибирования как долю активных центров фермента, связанных в фермент-инги- биторный комплекс, то для такого случая на примере амперометрического биосенсора можно записать:где СЕ\_, , СЕ и С, — концентрации фермент-ингибиторного комплекса, свободных центров фермента и ингибитора соответственно; А/ — изменение стационарного тока восстановления (или окисления) продукта ферментативной реакции (например, отклик амперометрического биосенсора); /0 — отклик биосенсора до контакта фермента с ингибитором

В уравнении Хилла величину определяют по углу наклона графика в двойных логарифмических координатах. В тех же координатах можно рассчитать коэффициент Хилла х. В водной среде для кинетики по Михаэлису—Ментен jc = 1, в органических растворителях значение х увеличивается, достигая 3-4. Коэффициент Хилла служит критерием влияния растворителя на кинетику ингибирования фермента. Помимо этого, влияние условий измерения ингибирующего эффекта (органический растворитель, использование медиаторов электронного переноса) количественно характеризуется эффективностью катализа, где К' — экспериментальное значение константы Михаэлиса {ср. vmax/Кт в кинетике гомогенного ферментативного катализа).

В случае биосенсоров на основе pH-зависимых электродов необходимо дополнительно учитывать кислотно-основные равновесия, включающие компоненты буферного раствора и носитель фермента, если он обладает свойствами полиэлектролитов или буферных систем. В работах, посвященных определению ингибиторов с помощью потенциометрических биосенсоров, приводится оценка концентрации Isoпо градуировочному графику в линейных (К- С,) или полулогарифмических (Y- lgCj) координатах.

Соотнести величину 1^ с той или иной кинетической характеристикой ингибирования достаточно сложно.

Для необратимого ингибирования расчет бимолекулярной константы ингибирования производится по уравнению (2.7) с теми же допущениями об отсутствии диффузионного торможения реагирования. Выражая отношение v0/v/ через степень ингибирования отклика иммобилизованного фермента (К, %), для ки можно получить следующее выражение:

Графики линеаризуют в координатах 1п( 100 - У) — С, либо 1п( 100 - У)1 — т, в которых (100— У) отражает остаточную активность фермента после инкубирования, %. Область линейности графика, как правило, охватывает лишь низкие концентрации ингибитора

Говоря о вкладе иммобилизации фермента в характеристики определения ингибитора, следует учитывать факторы, непосредственно не связанные с взаимодействием фермент—ингибитор. К ним относится слабо предсказуемое влияние pH раствора. Иммобилизация фермента способна изменить pH-оптимум ферментативной активности и чувствительность фермента к ингибитору за счет изменения положения равновесия кислотно-оснбвных реакций, диффузионного накопления ионов водорода, выделяющегося в ферментативных реакциях субстратов гидролаз и оксидоредуктаз. Это может происходить за счет изменения констант соответствующих ионных равновесий, в первую очередь ответственных за связывание субстрата (ингибитора), из-за изменений диэлектрической проницаемости и ионной силы микроокружения активного центра фермента. Кроме того, могут ицgt;ать роль собственные буферные свойства фермента и балластного белка, а также торможение отвода ионов водорода, образующихся в ферментативной реакции. Дополнительные ограничения могут быть связаны с недостаточной pH-устойчивостью компонентов в составе конструкций на основе иммобилизованных ферментов. Например, разрушение материала электрода ограничивает максимальное значение pH функционирования холинэстеразного биосенсора на основе угольно-эпоксидной композиции или элекгрополимеризованного полипиррола.

В системах на основе двух иммобилизованных ферментов выбор pH рабочего раствора может осложняться несовпадением соответствующих рН-оптимумов ферментов. Так, при детектировании холинэстеразной активности с помощью холиноксидазы и холинэстеразы общая величина сигнала лимитируется активностью холиноксидазы, поэтому измерение концентрации ингибиторов ХЭ производят при pH 7,0. Безусловно, эти ограничения могут снизить чувствительность биосенсора к ингибиторам и повлиять на метрологические характеристики измерений.

Присутствие эффекторов. Действие веществ, влияющих на активность фермента, при их совместном присутствии складывается неадцитивно. Исключение составляют лишь необратимые ингибиторы в низких концентрациях.

Присутствие обратимого эффектора и субстрата снижает необратимое ингибирующее действие благодаря так называемому защитному эффекту. На стадии инкубирования активный центр фермента связывается с обратимым эффектором в лабильный комплекс, недоступный воздействию необратимого ингибитора. После добавления субстрата комплекс распадается и наблюдается частичное восстановление ферментативной активности. Количественно защитный эффект выражается коэффициентом защиты у, который определяется по изменению бимолекулярной константы необратимого ингибиро

Здесь индекс / = 0 относится к кинетическим параметрам необратимого ингибирования, полученным в отсутствие обратимого ингибитора, а индекс /— к тем же параметрам, полученным в присутствии обратимого ингибитора в концентрации С,. Использование защитного эффекта позволяет снизить пределы обнаружения обратимых ингибиторов. Действительно, например, для полного конкурентного ингибирования минимальный предел обнаружения в (0,15+0,25)^ достигается при С$« Кт, однако практически измерять ингибирующее действие при столь низких концентрациях субстрата (Cs \* п • 10~6 М) не удается, так что теоретического предела обнаружения достичь невозможно. При использовании защитного эффекта необратимый ингибирующий эффект можно определять при любых, в том числе высоких концентрациях субстрата, к тому же для повышения точности измерения можно варьировать продолжительность инкубирования.

48. Физико-химические свойства гидролаз: амилазы, β-галактозидаза, протеолитические ферменты.

Гидролазы – класс объединяющий ферменты микробов и других живых организмов, являющихся катализаторами реакций расщепления и синтеза белков, жиров и полисахаридов с участие воды. Гидролазы, как и другие ферменты микроорганизмов, синтезируются бактериальной клеткой. Многие гидролазы способны действовать в изолированном от клетки положении.

α-Амилаза (α-1,4-глюкан-4-глюкангидролаза, эндо-1,4-α-0-глю-козидаза): Аморфные порошки от белого до желтовато-коричневого цвета, янтарные пасты или водные р-ры от янтарного до коричневого цвета

Раств. в воде; практически нераств. в этаноле, хлороформе, эфире. α-Амилазы устойчивы до рН 5,7 (ячменного солода); 5,2 (бактериальная); 3,5-4,5 (грибная). Оптимум действия р-амилазы при рН 4,8-5,0, стабильность при рН 4,5-8,0. Оптимум активности глюкоамилазы при рН 4,0-5,0 и температуре 50-60°С, обладает высокой кислото- и термостойкостью.

Катализируемые реакции: α-амилаза — эндогидролиз 1,4-α-Б-глюкозидных связей в полисахаридах, содержащих более двух 1,4-α-связанных D-глюкозных единиц, с образованием мальтозы и глюкозы; р-амилаза — гидролиз 1,4-α-Б-глюкозид-ных связей с образованием мальтозы; глюкоамилаза — гидролиз концевых 1,4-, а также 1,6-связанных α-D-глюкозных остатков с образованием β-D-глюкозы

α-Амилаза обнаружена в организме животных, в высших растениях, микромицетах и бактериях; р-амилаза и глюкоамилаза распространены в тканях высших растений.

Получение: Контролируемой ферментацией Aspergillus oryzae, Bacillus Subtilis, Aspergillus awamori и т.д., экстракцией ячменного солода.

Белок б-амилаз обладает слабокислыми свойствами; изоэлектрическая точка ферментов колеблется в пределах рН 4,2-5,7. Молекулярная масса солодовой б-амилазы 60000, б-амилаз микроскопических грибов - 45 000-50000. Многие из известных ныне б-амилаз получены либо в высокоочищенном, либо в кристаллическом виде. Ионы кальция оказывают стабилизирующее действие на б-амилазы. Это впервые было обнаружено Воллерштейном, затем подтверждено Накамурой. В настоящее время это явление отмечено почти для всех амилаз. Однако теоретически этот вопрос применительно к промышленному гидролизу крахмала до сих пор не разработан.

Протеолитические ферменты (синоним: протеазы) — белки, пептид-гидролазы, ферменты класса гидролаз, расщепляющие пептидные связи между аминокислотами в белках и пептидах.

Протеолитические ферменты играют важнейшую роль в переваривании белков пищи в желудке и кишечнике человека. Большинство протеолитических ферментов органов пищеварения продуцируется в виде проферментов. Физиологический смысл этого заключается в том, чтобы акт продукции фермента (профермента) был отделен от акта его активации — превращения в фермент и, таким образом, белки тканей, продуцирующих ферменты, не подвергались воздействию этих самых ферментов.

К эндопептидазам относятся наиболее важные для желудочного пищеварения протеолитические ферменты пепсин, гастриксин и химозин, а также вырабатываемые в виде проферментов поджелудочной железой и участвующие в кишечном пищеварении трипсин, химотрипсин и эластаза.

Экзопептидазами являются протеолитические ферменты карбоксипептидаза А и карбоксипептидаза В, также присутствующие в панкреатическом соке. К экзопептидазам относятся ферменты кишечного сока: аминопептидазы (аланин-аминопептидаза и лейцин-аминопептидаза) и дипептидазы (глицилглицин-дипептидаза, глициллейцин-дипептидаза, пролиназа и пролидаза).

В зависимости от локализации П. ф. протеолиз происходит при разл. значениях pH. Напр., пепсин и гастриксины желудка – при pH 1,5–2, ферменты лизосом – при pH 4–5, П. ф. сыворотки крови, тонкого кишечника – при нейтральных или слабощелочных значениях. Некоторые П. ф. в качестве кофактора используют ионы металлов (в т. ч. коллагеназа, термолизин).

β-галактозидаза представляет собой экзогликозидазу, которая гидролизует β-гликозидную связь, образованную между галактозой и ее органической частью. Он также может расщеплять фукозиды и арабинозиды, но с гораздо меньшей эффективностью. Это важный фермент в организме человека. Дефицит белка может привести к галактозиалидозу или синдрому Моркио В. В E. coli ген lacZ является структурным геном β-галактозидазы; который присутствует как часть индуцируемой системы lac operon, которая активируется в присутствии лактозы при низком уровне глюкозы. синтез β-галактозидазы прекращается, когда уровень глюкозы достаточен.

49. Применение иммобилизованных биокатализаторов в микроанализе и в медицине. Ферментные датчики и электроды.

Разработаны методы анализа с использованием ферментов для обнаружения разнообразных веществ. Большинство ферментных препаратов взаимосвязано, т.е. продукт одной реакции, может быть субстратом для другой ферментативной реакции. Если трудно определить продукт первой реакции, то берётся фермент, который начинает превращение первого продукта во второй, который можно легко определить. Т. о. повышается чувствительность анализа. Безреагентные методы основанны на использовании различных биохимических сенсоров.**Биосенсор** представляет собой устройство, в котором чувствительный слой, содержащий биологический материал: ферменты, ткани, бактерии, дрожжи, антигены/антитела, липосомы, органеллы, рецепторы, ДНК, непосредственно реагирующий на присутствие определяемого компонента, генерирует сигнал, функционально связанный с концентрацией этого компонента. Конструктивно он состоит из двух преобразователей - биохимического и физического, находящихся в тесном контакте друг с другом. Биохимический преобразователь выполняет функцию биологического элемента распознавания, преобразуя определяемый компонент, а точнее, информацию о химических связях в физическое или химическое свойство или сигнал, а физический преобразователь это свойство фиксирует с помощью специальной аппаратуры. Наличие в устройстве биоматериала с уникальными свойствами позволяет с высокой селективностью определять нужные соединения в сложной смеси.

**Аналитические устройства на основе ферментов.** Холинэстеразу, включенную в крахмальный гель и нанесе на полиуретановую пластинку, использовали для обнаружения фосфорорганических инсектицидов в воздухе. Этот фермент очень чувствителен к фосфорорганическим соединениям, легко ими ингибируется. После пропускания анализируемого воздуха по разнице между исходной ее активностью и активностью после контакта с воздухом по градуировочному графику находят концентрацию этих токсичных соединений. **Микрокалориметрический датчик.** В его основе лежит то что любая ферментат реакция идет с выделением тепла. Если через 1 и 2 колонку пропустить буф. раствор в кот нет вещ-ва взаимод-го с ферментом то темп-ра в колонках будет одинаковой.Если через 1 колонку пропустить буф рас-р, а через 2 буф рас-р с субстратом, то в рез-те фермент р-ции тем-ра измерит колонки изменится и самописец зарегистрирует это. ***Электрод для определения глюкозы:*** самым распространенным в настоящее время является амперометрический биосенсор на основе иммобилизованной глюкозоксидазы для определения сахара в жидкостях. В качестве физического трансдьюсера в нем использован так называемый электрод Кларка. Ток восстановления кислорода на платиновом катоде прямо пропорционален концентрации кислорода. В присутствии субстрата (глюкозы в крови) ферментативная реакция понижает концентрацию O2.

Медицина. перспективное средство медикаментозного лечения вследствие их чрезвычайности высокой активности и специфичности. Но недостатки препятствуют их широкому применению. Это мобильность в физиологических условиях, быстрое выведение из организма и разрушение под действием эндогенных протеаз, антигенность как чужеродных организму белков; нередко токсичность и малая доступность, дороговизна. Поэтому использовать иммобилизованные производные на носителях. Первым типом «искусственных клеток» являются микрокапсулы Чанга (1965 г). Основное достоинство - их можно имплантировать в нужное место, например в непосредственной близости от опухоли, для переработки метаболитов способствующих росту опухолевой ткани.

К лекарственным препаратам, иммобилизованных на твердых носителях, можно отнести, также перевязочные материалы, содержащие обычно протеолитические ферменты, которые применяются для очищения гнойных ран.

Одними из перспективных направлений лечения ряда заболеваний являются методы, основанные на гемосорбции и лимфосорбции. Эти методы основаны на пропускании крови через колонку, заполненную соответствующим носителем с или без иммобилизованного фермента. Носители сорбирующих колонок содержат специфические соединения, способные связывать токсины, находящиеся в организме. Иногда удобнее применять твердые носители, содержащие ферменты. Основное требование к ним – они не должны вызывать деформацию ферментных элементов крови. Модификация таких носителей (стекло, керамика, силикаты) для придания им групп, связывающих белки, проводится методами, заставляющим вступать в реакции с ОН- группами носителей. Исходный материал для матрицы должен выбираться таким, чтобы наблюдалась минимальная специфическая сорбция.

50. Общая характеристика микроорганизмов.

**Микроорганизмы** – организмы микроскопических размеров невидимых не вооруженным глазом (размеры 0,01 – 10 мкм): 0,01-0,02 – мелк. вирусы, 0,1-0,3 – круп. вирусы и бак-ии, 0,5-3 – бактерии, 2-20 – дрожжи, более -10 – микроскопич. водоросли. Понятие «микроорганизм» не имеет точного смысла. Оно объединяет организмы по признаку их малых размеров и специфических методов изучения.

Микроорганизмы в зависимости от молекулярно-биологической организации подразделяют на прокариотов и эукариотов. Прокариоты - доядерные простейшие одноклеточные формы жизни, не имеющие ядерной мембраны и высокоорганизованных органелл. Это бактерии, в том числе актиномицеты и сине-зеленые водоросли. К эукариотам, имеющим оформленное ядро и высокоорганизованные органеллы, относятся одноклеточные и многоклеточные организмы, простейшие, грибы, водоросли (кроме сине-зеленых). Особое место среди микроорганизмов занимают вирусы - мельчайшие и простейшие формы жизни, стоящие на грани между живым и неживым, неспособные жить и размножаться вне животной, растительной или иной клетки. В состав вирусов входят нуклеиновые кислоты (ДНК или РНК), белки, ферменты. Еще более просто устроены прионы (инфекционные белковые частицы, лишенные генетического материала, т.е. НК.)

**Особенности микроорганизмов как объектов исследования и промышленного применения являются:**

1). Чрезвычайно малые размеры, которые определяют специфическими методами исследования и техника культивирования; 2). Короткий жизненный цикл, быстрое размножение и способность давать многочисленное потомство; 3). Разнообразие физиолого-биохимических свойств (по отн-ю к темп-ре; по отн-ю к рН; по отн-ю к кис-ду;). Быстрая адаптация к изменяющимся условиям среды обитания.

Многочисленные микроорганизмы (бактерии, грибы, простейшие, вирусы) систематизированы в определенном порядке по их сходству, различиям и взаимоотношениям между собой. Этим занимается специальная наука, **называемая систематикой**. Раздел систематики, изучающий принципы классификации, называется **таксономией.** **Таксон** - группа организмов, обладающих заданной степенью однородности. Для микроорганизмов рекомендованы следующие таксономические категории: **класс, отдел, порядок, семейство, род, вид**. Все . таксономические категории описываются с помощью признаков. Признаки могут быть морфологическими, культуральными, физиолого-биохимическими, иммунологическими и т.д.

**По Берджи все бактерии разделены на четыре основные категории:**

**I Грамотрицательные эубактерии**, имеющие клеточные стенки. Категория включает 12 групп, из которых наиболее широко используются в биотехнологии 4 группа - грамотрицательные, аэробные / микроаэрофильные палочки и кокки: Асеtоbасtег, Glисоnоbасtеr – продуценты уксусной кислоты; Pseudomonas- продуценты аминокислот, витаминов, ферментов, органических кислот; Rhzobium - клубеньковые бактерии, фиксирующие атмосферный азот - получение биоудобрений; Xanthomonas- продуцент ксантана.

**II Г+ эубактерии**, имеющие клеточные стенки. Категория включает 17 групп, представителей следующих родов: Streptococcus, Lactobacillus-молочная промышленность;Leuconostoc - продуцент декстрана, Bacillus продуценты ферментов; Clostridium-продуценты ацетона, бутанола, Propionibacterium- продуценты пропионовой кислоты, витамина В12, Streptomices -продуценты антибиотиков и ферментов.

**III Эубактерии**, лишенные клеточных стенок -обычно называемые микоплазмами.

**IV Архебактерии** - прокариоты, ряд уникальных свойств и бх процессов. Они обитают в средах с экстремальными условиями-высокие концентрации неорганических солей, повышенные температуры, оксид и диоксид углерода - как единственные источники углерода. К архебактериям относятся галофильные бактерии (солелюб.), термоацидофильные (при высоких t и ph), бактерии и метанообразующие или метаногенные бактерии. Большинство бактерий имеют сферическую, цилиндрическую и спиралевидную форму. Существуют также нитчатые, ветвящиеся бактерии и бактерии образующие выросты. Сферические бактерии называются кокками. В зависимости от взаимного расположения они делятся на микрококки, диплококки, стрептококки, тетракокки, сарцины, стафилококки. Цилиндрические или палочковидные бактерии имеют форму палочек с закругленными (Е. соli), обрезанными (сибиреязвенная бацилла) или заостренными концами. **Извитые бактерии бывают трех типов**: 1. вибрионы - слегка изогнутые палочки, похожие на запятую (холерный вибрион), 2. спириллы - имеют несколько правильных завитков, 3. спирохеты имеют вид тонких спиралевидных клеток с многократными завитками и петлями.

51.Строение бактериальной клетки. Структура клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий.

Клеточная стенка — тонкая бесцветная структура, которая придает клетке определенную форму и вместе с прилежащей к ней цитоплазматической мембраной позволяет удерживать высокое внутриклеточное давление. Клеточная стенка прокариот выполняет разнообразные функции: обеспечивает поддержание постоянной формы клетки, участвует в процессе деления клетки, механически защищает клетку от воздействий окружающей среды, от избыточного проникновения в нее воды. На долю клеточной стенки приходится от 5 до 20 % сухих веществ клетки.

Основной каркас клеточной стенки бактерий составляет полимер, называемый пептидогликаном или муреином (от лат. murus — стенка). Способность синтезировать полимер такого рода свойственна только прокариотам.

Муреин — гетерополимер, состоящий из параллельно расположенных молекул гликана, соединенных поперечной пептидной связью. Гликан образован чередующимися остатками N-ацетилглюкозамина и N-ацетилмурамовой кислоты, соединенных гликозидной связью типа р (1 → 4). Остатки мурамовой кислоты через лактильные группы соединены с аминокислотами.

С муреиномковалентно связаны тейхоевые кислоты, представляющие собой полимеры рибит-фосфата или глицеринфосфата. Тейхоевые кислоты расположены по обе стороны пептидогликанового слоя, причем на наружной стороне их меньше, чем на стороне, прилегающей к цитоплазматической мембране.

Прокариоты, не имеющие клеточной стенки, встречаются в природе. Это самые мелкие прокариоты — сапрофиты или паразиты, способные размножаться самостоятельно в организме хозяина и вызывающие хронические инфекции. Их называют микоплазмами. В частности, Mycoplasma pneumoniae вызывает у человека заболевание по типу острой респираторной инфекции.

Обнаружены прокариоты, у которых клеточная стенка по составу и структуре существенно отличается от вышеописанного пептидогликана. Эти микроорганизмы принадлежат к группе архебактерий. Так, у галофильных архебактерий рода Ualobacterium клеточная стенка состоит в основном из гликопротеинов, а у архебактерий рода Halococcus — из гетерополисахаридов. У метанобразующих бактерий обнаружены клеточные стенки трех типов: состоящие из псевдомуреина, построенные из белковых глобул и из гетерополисахаридов.

Цитоплазматическая мембрана (ЦПМ) (от лат. membrane — кожица, оболочка) расположена между клеточной стенкой и цитоплазмой. Она является обязательным структурным элементом любой клетки и представляет собой белково-липидный комплекс, в состав которого входит от 50 до 75 % белков и от 15 до 45 % липидов. Толщина ЦПМ обычно составляет 4—7 нм.

В составе мембраны обнаружены липиды трех классов: фосфолипиды, гликолипиды и стероиды (холестерин). Основную структурную роль в ЦПМ играют фосфолипиды. Они формируют двухслойную структуру, в которой гидрофильные головы фосфолипидов обращены наружу, а гидрофобные «хвосты» (это, как правило, две жирнокислотные цепи) — вовнутрь. Белковые глобулы плавают в фосфолипидном слое, будучи погружены в него полностью (интегральные белки), или находятся на поверхности (периферийные белки).

ЦПМ участвует в превращениях клеточной энергии. Бактерии получают энергию в процессах дыхания или фотосинтеза, а в ЦПМ расположены переносчики цепи электронного транспорта, которые генерируют электрохимическую энергию (ΔДμн+), используемую в клетке с различными целями, в том числе и для образования химической энергии — АТФ. В мембране расположены и ферментные комплексы, катализирующие превращение электрохимической энергии в АТФ (ΔДμн+→ АТФ).

Кроме того, на цитоплазматической мембране локализуется центр репликации бактериальной хромосомы.

Мезосомы. Темпы роста цитоплазматической мембраны обычно опережают темпы роста клеточной стенки, в результате чего мембрана часто образует многочисленные инвагинации (впячивания вовнутрь) различной формы, называемые мезосомами. Мезосомы бактерий довольно разнообразны по форме, размерам и локализации в клетке. Наиболее просто организованнныемезосомы имеют форму везикул (пузырьков), более сложно устроены ламиллярные (пластинчатые) и тубулярные (трубчатые) мезосомы. По расположению в клетке различают мезосомы, образующиеся в зоне клеточного деления и формирования поперечной перегородки (септы), мезосомы, к которым прикрепляется нуклеоид перед делением клетки (ядерные), и мезосомы, сформированные в результате инвагинации периферических участков ЦПМ (периферические).

Цитоплазма отделена от клеточной стенки цитоплазматической мембраной и представляет собой сложную коллоидную систему, состоящую на 80—85 % из воды и растворимых белков, ферментов, РНК, субстратов и продуктов метаболических реакций. В цитоплазме содержатся рибосомы, запасные питательные вещества: полисахариды, поли-β-оксимасляная кислота, полифосфаты, сера, железо и другие соединения.

Рибосомы — рибонуклеопротеидные частицы диаметром 15...20 нм, состоящие на 2/3 из РНК и на 1/3 из белков. Их основная функция — биосинтез белка. Количество рибосом в клетке колеблется от 5 до 90 тыс. Рибосомы прокариот имеют константу седиментации 70 единиц Сведберга (S); их называют 70S-рибосомами. Каждая рибосома состоит из двух субъединиц: 30S и 50S. Во время активного синтеза белка в клетке образуются правильные цепочки рибосом, напоминающие бусы; их называют полирибосомами или полисомами.

Нуклеоид прокариот представлен молекулой ДНК, которая формирует структуру, имеющую вид замкнутого кольца, компактно упакованную и занимающую определенную область в цитоплазме. Молекулярная масса нуклеоида (1—3) х 109 Д. Нуклеоид не отделен от цитоплазмы ядерной мембраной. В молекуле ДНК сосредоточена почти вся генетическая информация клетки, поэтому ее называют также бактериальной хромосомой. Обычно в бактериальной клетке содержится одна хромосома. У бактерий с крупными клетками (нитчатые цианобактерии) часто обнаруживают несколько нуклеоидов — до 8.

Внехромосомные генетические элементы. У многих бактерий обнаружены внехромосомные генетические элементы: плазмиды, умеренные фаги, транспозоны и IS-элементы.

Плазмиды — нехромосомные молекулы ДНК небольшого размера, ответственные за какой-либо определенный признак. Так, фактор фертильности — F-фактор (от fertility — плодовитость) является плазмидой и содержит гены, контролирующие процесс конъюгации. R-фактор — фактор резистентности (resisfence) — несет гены, ответственные за устойчивость бактерий к лекарственным препаратам. Плазмиды могут определять вирулентность бактерий, например, у возбудителей чумы, столбняка, газовой гангрены и др.

Многие бактерии синтезируют белки, подавляющие рост родственных видов или видов, угнетающих их рост. Эти белки специфического действия называются бактериоцинами. Их синтез кодируется особыми плазмидами или бактериоциногенными факторами. Бактериоцины были выделены из клеток Escherichiacoli (колицины), Pseudomonasaeruginosa (пиоцины), Bacillusmegatherium (мегацины), Lactobacillusacidophilus (лактоцины).

Транспозоны и IS-элементы, называемые также мигрирующими элементами, представляют собой линейные молекулы двунитчатой ДНК, включающие от 200 до 6000 пар нуклеотидов. Эти элементы могут встраиваться в разные участки бактериальной хромосомы или мигрировать с бактериальной хромосомы на плазмиду. Характерно, что транспозоны и IS-элементы не способны к автономной репликации; их репликация происходит одновременно с соответствующей хромосомой или плазмидой. Перенос мигрирующих элементов (транспозиция) осуществляется с частотой от 10-4 до 10-6. В IS-элементах не закодировано никаких признаков, они содержат только информацию, необходимую для их переноса внутри клетки. У более сложно устроенных транспозонов имеются гены, ответственные за устойчивость клетки к антибиотикам, ионам тяжелых металлов и другим ингибиторам.

Умеренные фаги и определенные плазмиды служат переносчиками мигрирующих элементов между клетками. В результате встраивания мигрирующих элементов в бактериальную хромосому появляются мутантные клетки, у которых изменился порядок расположения нуклеотидов в триплете ДНК, вследствие чего нарушается процесс транскрипции.

Запасные вещества. У прокариот к резервным веществам относятся полисахариды, липиды, полифосфаты, соединения серы, углеводородные гранулы. Эти вещества накапливаются в клетке, если в питательной среде содержатся соответствующие соединения. При недостатке внешних источников энергии они включаются в метаболизм и могут продлить существование клетки.

Из полисахаридов в клетках бактерий обнаруживаются гликоген и крахмал. Анаэробные спорообразующие бактерии — клостридии способны накапливать крахмалоподобное вещество — гранулезу. Запасные полисахариды, в отличие от полисахаридов клеточной стенки, все образуются из α-D-глюкозы.

Липиды накапливаются в виде гранул и капелек жира, которые в световом микроскопе сильно преломляют свет. Липиды многих бактерий состоят из поли-β-гидроксимасляной кислоты. Поли-β-гидроксимасляную кислоту образуют многие аэробные бактерии, цианобактерии и факультативные фототрофные бактерии. Микобактерии в качестве резервных липидов накапливают воска (сложные эфиры высших жирных кислот и спиртов).

Полифосфаты. Многие бактерии способны накапливать фосфорную кислоту в виде гранул полифосфатов. Впервые такие гранулы были описаны у Spirillum volutans, поэтому их называют также гранулами волютина или метахроматиновыми зернами, так как при окрашивании препарата бактерий метиленовым синим цитоплазма окрашивается в голубой, а гранулы полифосфатов — в красно-фиолетовый цвет. Полифосфаты используются клетками как источник фосфора и энергии.

Сера накапливается серными бактериями в присутствии сероводорода в среде и окисляется до сульфата, когда весь сероводород оказывается исчерпанным. Для аэробных бесцветных серных бактерий сера служит источником энергии, а для анаэробных фототрофных пурпурных серобактерий — донором электронов.

Жгутики. На поверхности клеток многих бактерий имеются структуры, определяющие их подвижность в жидкой среде. Наличие, число, размеры и расположение жгутиков являются признаками, которые характерны для данного вида бактерий и имеют важное таксономическое значение.

• монополярный монотрих — один жгутик прикреплен к одному из полюсов клетки;

• монополярный политрих или лофотрих — пучок жгутиков прикреплен на одном из полюсов клетки ;

• биполярный монотрих — по одному жгутику на обоих полюсах клетки;

• биполярный политрих или амфитрих — по пучку жгутиков на каждом полюсе клетки ;

• перитрих — многочисленные жгутики расположены по всей поверхности клетки.

Ворсинки (фимбрии, пили) — длинные неподвижные нитевидные структуры, находящиеся на поверхности некоторых бактерий. Фимбрии имеют цилиндрическую форму, длиной 0,2—2,0 мкм и внутренним диаметром 5—10 нм. Они состоят из белка, называемого пилином. По морфологии, антигенным свойствам и выполняемым функциям различают несколько типов фимбрий. Фимбрии первого типа выполняют функцию прикрепления клетки к поверхности субстрата или сцепления друг с другом. Фимбрии второго (общего) типа ответственны за питание и водно-солевой обмен клетки. Количество фимбрий общего типа достигает нескольких тысяч. Термин пили применяется для обозначения третьего типа фимбрий (F-пили) — половых, образуемых клетками-донорами. Их количество — 1—3 на клетку.

Капсула. Многие прокариоты синтезируют органические полимеры, которые откладываются с наружной стороны клеточной стенки в виде аморфного слоя, называемого капсулой или слизистым чехлом. В зависимости от толщины слизистого слоя принято различать: микрокапсуду, видимую лишь под электронным микроскопом, толщиной до 0,2 мкм, макрокапсулу — слизистый слой, толщиной более 0,2 мкм, и слизистый слой — слизистое вещество, окружающее клетку и по толщине часто превосходящее ее.

Клеточная стенка грамположительных бактерий достаточно массивна, толщина ее составляет 20—80 нм. Она имеет гомогенную трубчатую структуру, пронизанную порами, и плотно прилегает к ЦПМ. На долю муреина приходится 30—70 % сухой массы клеточной стенки. С муреином связаны тейхоевые кислоты. Они присутствуют только у грамположительных бактерий и представляют собой полимеры на основе рибита или глицерина, остатки которых соединены между собой фосфодиэфирным связями.

Обработка спиртом при окраске по Граму вызывает разбухание муреина и уменьшение диаметра пор клеточной стенки, что в целом приводит к снижению ее проницаемости, в результате чего окрашенный комплекс не вымывается из клетки.

Клеточная стенка грамотрицателъных бактерий многослойна и более разнообразна по химическому составу (рис. 6). Внутренний слой клеточной стенки представлен муреином, на долю которого приходится от 1 до 10 % ее сухой массы. Его толщина составляет лишь 2—3 нм. Муреиновый слой отделен от мембраны периплазматическим пространством, в котором содержатся ферменты. Со слоями муреинаковалентно связаны липопротеины. Их липофильные концы обращены наружу. Внешний слой клеточной стенки (наружная мембрана), имеющий толщину 8—10 нм, образован фосфолипидами, липополисахаридами и белками и связан с муреином посредством липопротеинов. Гидрофобные концы фосфолипидов и липополисахаридов обращены вовнутрь, а гидрофильные головы их — наружу. В двойной липидный слой наружной мембраны встроены белки — порины, пронизывающие этот слой насквозь. Порины пропускают через мембрану гидрофильные низкомолекулярные вещества (порядка 6000 Д). Липополисахарид (ЛПС) наружной мембраны состоит из трех компонентов: липида А, сердцевинной зоны (или ядра) и О-специфической боковой цепи полисахарида — О-антигена. Липид А придает токсичность липополисахариду, в связи с чем ЛПС относятся к наиболее действенным эндотоксинам бактерий.

А. Грамположительная клеточная стенка, по сравнению с грамотрицательной, более толстая, но более простая по строению.

1. Её основу составляет многослойны пласт пептидогликана, тесно прилегающий к цитоплазматической мембране.

2. Пептидогликановый слой пронизывают тейхоевые кислоты – полимерные структуры, занимающие пограничное положение между гликоконъюгатами и фосфолипидами.

3. Тетрапептидыпептидогликана соединены межпептидными мостиками (пентаглициновыми???).

4. Нет наружной мембраны и периплазматического пространства).

Б. Грамотрицательная клеточная стенка тоньше, чем грамотрицательная, но более сложная по своему строению.

1. Пептидогликан представлен в ней 1 тонким слоем.

2. При этом пептидогликановый слой не тесно прилегает к цитоплазматической мембране, а отделён от неё периплазматическим пространством.

3. Грамотрицательная клеточная стенка, кроме того, содержит так называемую наружную мембрану. Эта структура имеет иное строение, нежели цитоплазматическая мембрана и состоит в основном из липополисахарида.

Грамотрицательные: E. coli, Yersinia pestis, Vibrio choleae, Rhizobium, Acetobacter, продуценты бактериальной целлюлозы, Xanthomonas campestris, Pseudomonas.

Грамположительные:Bacillus nesentericus- картофельная болезнь хлеба, Clostridium, Locotococceus lactis, Propioni bacterium, бифидобактериум.

|  |  |
| --- | --- |
| Грамположительные бактерии | Грамотрицательные бактерии |
| Микрококки, сарцины, стафилококки, молочнокислые, пропионовокислые, маслянокислые бактерии, бациллы, клостридии, бифидобактерии | Кишечные палочки, сальмонеллы, возбудители дизентерии, холеры, бруцеллеза, брюшного тифа, псевдомонады, палочки протея, уксуснокислые бактерии |

52.Понятия о покоящихся формах микроорганизмов. Споры бактерий, их особенности. Биологические и биотехнологические аспекты устойчивости спор.

К покоящимся формам относятся специализированные клетки - цисты, акннеты и эндоспоры. Они предназначены для обеспечения выживания вида в неблагоприятных условиях. Появление покоящихся форм свидетельствует о морфологической и функциональной дифференцировке клеток у прокариот. Образованию их способствуют определенные питательные вещества, температура, pH, аэрация. При попадании в подходящую среду они прорастают в вегетативные клетки.

Для всех покоящихся форм характерен предельно низкий уровень метаболических процессов, что определяет длительность сохранения ими жизнеспособности. Основными механизмами, обеспечивающими устойчивое пребывание клеток в состоянии покоя, являются: наличие в этих клетках специальных репрессоров - ингибиторов ферментативной активности; крайне низкое содержание свободной воды в цитоплазме (спороплазме); конформационное изменение ферментов, вызванное обезвоживанием покоящихся клеток. В отличие от исходных вегетативных клеток покоящиеся формы обладают повышенной устойчивостью к разнообразным неблагоприятным факторам внешней среды, в связи с чем обеспечивают надежное сохранение вида в природе. Наибольшей устойчивостью к действию температуры, кислотности среды, высушивания, литических ферментов и др. характеризуются эндоспоры. Известно, что эндоспоры некоторых бактерий отмирают на 90 % только в результате нагревания при 100° С в течение 10-15 мин, в то время как цисты азотобактера полностью погибают после прогревания их при 60° С в течение 15-20 мин; акинетыцианобактерий отмирают на 95 % после нагревания при 40° С в течение 10 мин.

Цисты. Покоящиеся клетки овальной формы и более крупных размеров, чем вегетативные, покрытые толстым слоем уплотненной слизи, называются цистами. Образование цист, присущее азотобактеру, миксобактериям, спирохетам, риккетсиям характерно для стареющих культур. Появление их у азотобактера сопровождается изменением морфологии клеток. Присущие молодой культуре палочковидные клетки укорачиваются в размерах за счет утолщения и превращаются в кокковидную форму.

В цитоплазме накапливаются гранулы поли-р-оксимасляной кислоты. Жгутики теряются, подвижность прекращается. Одна или несколько таких клеток покрываются толстой слизистой капсулой и переходят в покоящееся состояние, характерное для цист. Последние обладают более высокой устойчивостью к высушиванию, нагреванию, действию осмотического давления, чем вегетативные клетки. У миксобактерий образование цист является закономерной стадией развития. После активного размножения клетки собираются и образуют скопления в отдельных точках слизистого матрикса. Эти скопления в виде простого бугорка или сложных, ярко окрашенных деревоподобных структур возвышаются над субстратом и носят названия плодовых тел. В плодовых телах клетки миксобактерий переходят в покоящееся состояние. Они принимают овальную форму, происходит утолщение клеточной стенки, уплотнение цитоплазмы, дополнительный синтез белка. Такие покоящиеся клетки у миксобактерий получили название миксоспор. Они устойчивы к нагреванию, высушиванию и другим неблагоприятным факторам. От вегетативных клеток отличаются большей оптической плотностью и сильным преломлением света, что позволяет обнаруживать их с помощью светового микроскопа. Образование цист у миксобактерий можно индуцировать внесением в среду глицерина или аминокислот.

Акинеты. Покоящиеся клетки нитчатых цианобактерий получили название акинет. Они образуются из отдельных клеток в период замедления роста культуры. Превращающаяся в акинету клетка увеличивается в размерах, утолщается пептидогликановый слой клеточной стенки и уплотняется слизистый чехол. В цитоплазме накапливается больше запасных включений - гликогена, полифосфатов, цианофицина, повышается содержание ДНК и рибосомы. Количество хлорофилла и фикобилиновых пигментов уменьшается, снижается интенсивность фотосинтеза. В акинетах меньше воды, чем в вегетативных клетках. Подобно цистам, они обладают повышенной устойчивостью к неблагоприятным условиям. Образованию акинет способствуют низкая температура, высушивание, высокое содержание глутамина.

Споры у бактерий образуются внутри клетки и носят название эндоспор. Образование эндоспор присуще палочковидным бактериям родов Bacillus и Clostridium и является для них характерным и постоянным признаком. Среди бактерий других морфологических групп спорообразование - редкое явление. Всего известно 15 родов бактерий, отдельные представители которых образуют эндоспоры, например, роды Sporosarcina, Sporospirillum, Desulfotomaculum.

Эндоспоры - это особый тип покоящихся клеток, которые в отличие от цист и акинет образуются внутри вегетативной клетки - спорангия. Споры могут иметь сферическую или овальную форму и занимать в клетке центральное или терминальное положение.

В отличие от вегетативных клеток они обладают высокой устойчивостью к неблагоприятным факторам внешней среды: высокой температуре, высушиванию (годами могут сохраняться в высушенном состоянии), действию повышенных концентраций солей, а некоторые выдерживают даже длительное кипячение. В литературе описаны случаи прорастания спор бактерий, выделенных из гробниц египетских пирамид. Высокая устойчивость спор к неблагоприятным воздействиям имеет большое биологическое значение для спорообразующих бактерий. Эта особенность, а также то, что в клетке, как правило, образуется только одна спора, свидетельствует о том, что процесс спорообразования не является средством размножения бактерий, а служит приспособлением к сохранению вида.

Экзоспоры. Покоящимися клетками и одновременно репродуктивными структурами у актиномицетов наряду с эндоспорами являются экзоспоры. Они образуются путем фрагментации гиф воздушного мицелия на отдельные участки, каждый из которых превращается в спору. Формирование экзоспор сопровождается утолщением клеточной стенки за счет образования дополнительных наружных покровов. Однако такие структуры, как кортекс и экзоспориум, характерные для эндоспор, у экзоспор отсутствуют. Не обнаружено в экзоспорах и дипиколиновойкислоты. В связи с этим, экзоспоры актиномицетов существенно не отличаются от мицелия по устойчивости к повышенной температуре и другим неблагоприятным факторам. Однако в высушенном состоянии они могут более длительное время сохранять жизнеспособность. Обнаружение экзоспор присуще почти всем эуактиномицетам. Кроме актиномицетов экзоспоры образуют некоторые почкующиеся и метанолокисляющие бактерии. У фототрофных бактерий Rhodomicrobiumэкзоспоры формируются на конце гифы материнской клетки; у метилотрофных бактерий непосредственно от материнской клетки.

53.Актиномицеты, их строение, развитие и применение в биотехнологии.

Род Actynomyces - Ветвящиеся бактерии. Не содержат в клеточной стенке хитина, стенка имеет строение грамположительных бактерий. Мицелий имеет вид тонких прямых палочек, образуют нити. Характерная особенность актиномицетов — способность образовывать хорошо развитый мицелий. Палочковидные формы, часто с утолщенными концами, в мазке располагаются по одиночке, парами, V- и Y-образно. Все морфологические формы способны к истинному ветвлению, особенно на тиогликолевой полужидкой среде. По Граму окрашиваются плохо, часто образуют зернистые либо четкообразные формы; некислотоустойчивы. Типовой вид — Actinomyces bovis.

Значение и роль актиномицетов

Прошло немало времени с тех дней, как был открыт стрептомицин, ( Образуется в процессе жизнедеятельности [лучистых грибов](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%BA%D1%82%D0%B8%D0%BD%D0%BE%D0%BC%D0%B8%D1%86%D0%B5%D1%82%D1%8B" \o "Актиномицеты) *Streptomyces globisporus streptomycini* или других родственных микроорганизмов.) однако и сейчас эти микроорганизмы служат источником многих необходимых человеку химических веществ: гормонов кортизона и преднизолона, протеолитических ферментов, кератиназы, витамина B12, биотина, пантотеновой и никотиновой кислоты, ауксинов и фитотоксинов, и веществ, обладающих антибиотическим воздействием. Биологически активные соединения, что производят лучистые грибы, используют в животноводстве и медицине, пищевой промышленности и для защиты растений от насекомых-вредителей. Также актиномицеты играют громадую роль в процессах почвообразования и создания плодородия почв. Они трансформируют и легко разрушают сложные органические соединения: целлюлозу, гумус, хитин, лигнин и некоторые другие, что недоступны многим микроорганизмам. Наукой было признано, что актиномицеты более устойчивы к высушиванию чем немицелиальные бактерии и именно благодаря этому они доминируют в пустынных почвах. К сожалению, немало среди актиномицетов патогенных для человека, животных или растений видов. Это такие, которые выделяются, например, из мокроты больного туберкулезом. И есть среди них и возбудители лёгочной инфекции, менингита и различных дерматитов.

Особенности и применение актиномицетов

Как уже отмечалось - одной из отличительных особенностей актиномицетов является их способность к синтезу физиологически активных веществ, таких как: антибиотики, пигменты и пахучие соединения. Именно ими формируется специфический запах почвы или воды, и это такие вещества, как: геосмин, аргосмин, муцидон, два-метил-изоборнеол и другие. Актиномицеты являются микроорганизмами, которые способны производить органические вещества из неорганических, поэтому и являются активными продуцентами антибиотиков, синтезируя почти половину всех известных в науке, и широко применяются в производстве органических веществ, стероидов, аминокислот и ферментов.

54.Грибы, их общая характеристика и использование в биотехнологии.

Грибы — низшие эукариотные одноклеточные и мицелиальныехемоорганотрофные организмы. Их относят к особому царству — Муcota. Представителей грибов делят на макро- и микромицеты. Макромицеты образуют крупные плодовые тела, отсутствующие у микромицетов. У последних на протяжении всего жизненного цикла имеются только микроскопические структуры.

6 классов: хитридиомицеты, зигомицеты, аскомицеты, базидиомицеты, дейтеромицеты и оомицеты.

Морфология общая.

Тело гриба, называемое мицелием, или грибницей, составляет разветвленные длинныенити, или гифы. У некоторых грибов нити гиф не имеют поперечных перегородок. Для большинства характерны гифы с поперечными перегородками — септами, разделяющими их на участки. На основании данного признака грибы делят на низшие -несептированные и высшие — септированные.

Грибы значительно крупнее бактерий и актиномицетов. Диаметр их гиф колеблется от 5 до 50 мкм и более. Клеточная стенка большинства грибов содержит хитин или близкие к нему соединения. Под клеточной стенкой находится зернистая цитоплазма. Она содержит большое количество рибосом, состоящих почти из одной РНК и служащих основным местом синтеза белка. В цитоплазме грибов есть митохондрии, в которых локализованы дыхательные ферменты, могут быть также включения волютина и жиров. В клетках грибов четко дифференцировано ядро, окруженное мембраной. Несептированный мицелий грибов содержит несколько ядер.

Наличие мицелия — один из отличительных признаков грибов. Отдельные участки мицелия грибов могут превращаться в специальные образования — спорангии, в которых формируются споры,служащие для сохранения или размножения вида. Способы размножения грибов весьма разнообразны. У них возможно вегетативное,бесполое и половое размножение. Специфичность размножения положена в основу систематики того или иного гриба.

Систематика.Размножение.

Грибы отнесены к царству Fungi (Mycota), подразделяемому на отделы Мухотусоta (грибы слизевики) и Eumycota (истинные грибы).

Миксомицеты — отдел Myxomycota. Это группа своеобразных организмов, напоминающих по некоторым свойствам грибы,но в определенные периоды цикла развития сходных с амебами.

Встречаются миксомицеты в виде слизистой массы, передвигаются, подобно амебам, выпуская псевдоподии. Тело этих микроорганизмов не разделено на клетки, в нем много ядер. Миксомицеты могут размножаться простым делением, но на определенной стадии развития две слизистые массы соединяются, образуя плодовое тело, в котором возникают споры.

Истинные грибы — отдел Eumycota.

Класс Chytridiomycetes характеризуется полным отсутствием мицелия или ценоцитным (неклеточным) мицелием. Представители данного отдела размножаются бесполым (зооспорами) или половым путем. Зооспоры и гаметы (планогаметы) имеют один задний жгутик. построенный по типу кнута. Многие хитридиомицеты — типичные водные организмы, однако есть среди них и обитатели почвы, паразиты растений, а также виды, живущие на отмерших растительных остатках.

Класс Zygomycetes — группа организмов, полностью утративших подвижные стадии развития. У его представителей наиболеечасто отмечается половое размножение. Бесполое размножение осуществляется неподвижными спорангиеспорами, образующимисявнутри спорангиев.

К описываемому классу в числе прочих относят представителей мукоровых грибов, широко распространенных в почвах. Мукоровые имеют хорошо развитый разветвленный одноклеточный мицелий, над которым возвышаются плодоносящие гифы — спорангиеносцы. Размножение бесполым путем происходит при помощинеподвижных спорангиеспор, образующихся внутри спорангиев.

Среди часто встречающихся в почве мукоровых грибов можно отметить роды Mucor, Thamnidium, Rhizopus и др.

Класс Ascomycetes представляет самую обширную группу грибов с разветвленным многоклеточным мицелием. Размножение у аскомицетов происходит обычно при помощи конидий. Они размножаются и половым путем — аскоспорами, которые образуются

послеслияния ядер половых клеток — гамет в сумке — аске. В аске могутразвиваться две, четыре, шесть или восемь аскоспор. Аски располагаются в образованиях различной формы — в аскокарпиях, иликлейстотеках, — вместилищах без отверстий, перитециях — вместилищах с отверстием или апотециях, имеющих форму чаши или куба.

К представителям класса Ascomycetes, часто встречающимся впочве, относят виды родов Aspergillus, Penicillium и Chaethomium.

Этим грибам свойственно размножение при помощи конидий, ноиногда у них образуются сумки. Один из широко известных представителей отдела — спорынья.

Класс Basidiomycefes — мицелий этих грибов состоит из многоклеточных гиф. Ядро базидиомицетов дифференцированное. Половое размножение осуществляется базидиями — образованиями,сходными по функциям с сумками аскомицетов. Каждая базидияобразуется после слияния ядер — гамет и представляет собой цилиндрическую клетку, на конце которой формируются четыре базидиоспоры. Последние отделяются и, попадая в благоприятные условия, развиваются в новый мицелий.

К базидиомицетам относят многих вредителей сельскохозяйственных растений, например возбудителей ржавчины и головни,вредителя древесины — домового гриба Serpulalacrymans, множество высших, в том числе съедобных, грибов, а также разнообразныхсапротрофов, активно участвующих в разложении органических остатков.

Класс Deuteromycetes — сборная группа, включающая так называемые несовершенные грибы. Их тело состоит из расчлененныхпрозрачных или окрашенных многоклеточных гиф, иногда из почкующихся клеток. Размножаются исключительно бесполым путем,при котором образование конидий происходит на изолированныхили расположенных группами конидиеносцах или в специальныхобразованиях, называемых пикнидами.

Половой процесс известен только у зигомицетов и аскомицетов. При половом размножении зигомицетов между гифами одного мицелия (у гомоталличных видов) или разных мицелиев (у гетероталличных) образуются короткие поперечные выросты, отделяющие на концах многоядерные клетки, носящие название гаметангиев. Они сливаются и образуют зиготу (зигоспору). После периода покоя зигота прорастает в спорангий. При этом имеет место мейоз. Многоядерная цитоплазма спорангия распадается на множество спорангиоспор, каждая из которых, освободившись при разрыве спорангия, в соответствующих условиях может прорасти в мицелий.

Большая часть жизненного цикла зигомицетов протекает в гаплоидной фазе.

У аскомицетов в результате полового процесса, которому предшествует плазмогамия, кариогамия и мейоз, формируются специализированные клетки округлой, цилиндрической или булавовидной формы аски (сумки). В сумке образуется определенное число (чаще всего 8) аскоспор, с помощью которых и происходит

размножение. У одних аскомицетов сумки возникают непосредственно на мицелии, у других внутри или на поверхности плодовых тел, образуемых в результате сплетения гиф мицелия. Плодовые тела разных представителей могут различаться по форме и строению. У аспергиллов и пенициллов они замкнутые, чаще всего округлой формы. Их можно обнаружить в культуре гриба невооруженным глазом. У большинства аскомицетов плазмогамия и кариогамия при половом процессе разделены во времени.

Использование грибов в пищевой промышленности

Грибы активно применяются в различных сферах пищевой промышленности. Они могут использоваться:

· в виноделии;

· в хлебопечении;

· в производстве сыров и кисломолочных продуктов, различных кондитерских изделий.

Несмотря на большое разнообразие модифицированных штаммов дрожжей, в производстве дорогих вин (например, французских) до сих пор используется живой гриб ботритис серый (Botrytis cinerea), который вызывает гниль винограда.

В хлебопечении используются специальные дрожжи, которые придают конечной продукции пористость. Они обогащают хлеб и хлебобулочную продукцию питательными веществами и микроэлементами. К тому же, на некоторых заводах в хлеб добавляют “грибной солод”. Это позволяет улучшить вкусовые качества производимой продукции.

Грибы нашли свое применение в осветлении плодово-ягодных соков. Они выделяют специальные ферменты, которые способствуют разложению пектиновых веществ.

Стоит отметить, что протеаза грибного происхождения может использоваться в мясоперерабатывающей промышленности. Добавление этого вещества делает продукцию менее жесткой и улучшает ее вкус.

«Грибной солод» активно используется при изготовлении патоки и кондитерских изделий Вещество замедляет процесс кристаллизации сахара, что позволяет сохранить привлекательный товарный вид продукции в течение длительного времени.

Использование грибов в лекарственной промышленности

Грибы – продукты, обладающие не только высокой пищевой ценностью, но и уникальными целебными свойствами. Вот почему люди еще в древние времена использовали их для избавления от различных болезней. В народной медицине грибы-боровики использовались для лечения обморожений.

Березовые грибы использовались для избавления от проблем с желудком. Они до сих пор продаются в аптеках в виде концентрированного экстракта, который эффективно борется с гастритом и способствует рассасыванию злокачественных опухолей на ранних стадиях.

В современном мире грибы используются для изготовления многих других лекарств. Открытие антибиотиков способствовало бурному развитию различных отраслей фармацевтической промышленности. Ученые провели ряд

исследований, в ходе которых была выявлена антибактериальная активность у 3 тысяч базидальных грибов.

Сегодня изготавливается много препаратов, содержащих экстракты белого гриба. Они применяются для лечения язв. Антибиотик белого гриба (герценин) активно используется в комплексном лечении стенокардии.

Грибы, содержащие антибиотики, используются для производства лекарств от туберкулеза, эпилепсии и многих других опасных заболеваний. Фармацевтическая отрасль продолжает развиваться бурными темпами. Ученые выявляют новые виды грибов, обладающих лечебными свойствами. Многие виды антибиотиков, которые в них содержатся, еще до конца не изучены. Это позволяет сделать вывод о том, что грибы будут и дальше использоваться при разработке и тестировании новых лекарственных препаратов.

Повышение продуктивности плесневых грибов, вырабатывающих антибиотики

Ученые долгое время создавали способы, позволяющие повысить эффективность использования грибов, обладающих целебными свойствами. На сегодняшний день для решения этой сложной задачи используется метод искусственного мутагенеза.

Было обнаружено, что природу лечебных грибов можно модифицировать путем воздействия коротковолновых лучей и различных химических веществ. Это позволяет менять наследственные признаки плесневых грибов, а также разрабатывать новые технологии, повышающие их продуктивность.

Например, известный гриб пеницилл раньше давал очень мало ценного вещества (антибиотика пенициллина). Но после того как ученые стали применять искусственный мутагенез и научились изменять природу пеницилла, его продуктивность возросла в разы.

Сегодня новые гибридные формы производят антибиотик в 500 раз больше, чем их предшественники, которые использовались 25-30 лет назад.

Грибы при повышенном холестерине

Грибы – ценный продукт, содержащий микроэлементы, которые обладают противовоспалительными, антиоксидантными и противораковыми свойствами. Они должны стать неотъемлемым элементом рациона любого человека, заботящегося о своем здоровье.

Многочисленные исследования подтвердили, что регулярное употребление в пищу некоторых видов грибов способствует снижению уровня холестерина в крови. Наибольшей эффективностью в этом плане обладают шампиньоны и вешенки. В них содержится особое вещество ловастатин, которое замедляет процессы синтеза холестерина в печени. Грибы позволяют избавиться от холестериновых бляшек в сосудах.

Регулярное потребление шампиньонов в пищу способствует очищению организма, выведению токсинов и вредных шлаков.

Здоровый рацион, в который обязательно должны включаться грибы – это отличный способ снижения риска развития:

· атеросклероза;

· инфаркта;

· инсульта;

· онкологии.

ДРОЖЖИ:

Дро́жжи — внетаксономическая группа одноклеточных грибов, утративших мицелиальное строение в связи с переходом к обитанию в жидких и полужидких, богатых органическими веществами субстратах. Объединяет около 1500 видов, относящихся к отделам Ascomycota и Basidiomycota. Дрожжи, у которых половой процесс не обнаружен, относят к несовершенным грибам.

Дрожжи и дрожжеподобные грибы относятся к классам Ascomycetes, Basidiomycetes и Deuteromycetes. Так, в класс Ascomycetes входит порядок Endomycetales — дрожжеподобные сумчатыегрибы, образующие эндоспоры. К упомянутому классу относят семейство Saccharomycetaceae, представители которого почти лишенымицелия. Это одноклеточные организмы овальной формы, размножающиеся почкованием или делением.

В данное семейство входит хорошо изученный род Saccharomyces, многие виды которого, например Saccharomyces cerevisiae,имеют большое значение в пищевой промышленности. Эти дрожжиразмножаются почкованием.

Виды рода Schizosaccharomyces, также относящегося к сахаромицетам, размножаются делением. Среди этих микроорганизмовесть возбудители спиртового брожения и дрожжи, вызывающие порчу вин, к ним относят и многие другие роды дрожжей, например

Nadsonia, виды которого обусловливают порчу пищевых продуктов.

В класс Ascomycetes входят и наиболее типичные почвенныедрожжи рода Lipomyces,

Класс Basidiomycetes представлен дрожжами, у которых образуются половые структуры базидиального типа — базидиоспоры.

Большая часть этих дрожжей родственна головневым грибам. Срединих красные дрожжи рода Rhodosporidium и розовые рода Sporobolomyces, обитающие на поверхности листьев растений, в бесполой стадии размножающиеся баллистоспорами.

К классу Deuteromycetes относят дрожжеподобные организмы,не имеющие эндоспор. Они размножаются почкованием. Некоторые виды рода Torula вызывают спиртовое брожение. У дрожжей рода Rhodotorula синтезируется розовый пигмент, они вызывают порчупищевых продуктов. Существуют и болезнетворные дрожжи, например некоторые виды Candida.

В почве встречается значительное число видов дрожжей, основная масса которых не вызывает спиртового брожения. Дрожжей —возбудителей брожения чаще всего можно обнаружить в почвах виноградников.

Деятельность дрожжей используют при приготовлении кормового белка, для чего их культивируют на средах с дешевым источником углерода и получают полноценный белковый продукт. Так, некоторые виды Candida используют в производстве кормовых дрожжей, используемых для нужд животноводства и птицеводства. Дрожжевание кормов является способом обогащения их белком и витаминами, которые содержатся в достаточном количестве в клетках дрожжей. Кормовые дрожжи

выращивают на дешевых и доступных субстратах — отходах промышленных производств и гидролизатах сельскохозяйственных отходов.

Дрожжи выращивают даже на нефтяных отходах. Некоторые виды этих микроорганизмов растут на углеводородах нефти, образуя биомассу, которая богата белками, содержащими все необходимые для животных аминокислоты. Особые дрожжи, накапливающие в клетках большое количество жира, пробуют применять для производства технических жиров. Но существуют патогенные и условно-патогенные виды дрожжей, вызывающие заболевания. К оппортунистическим возбудителям заболеваний относится Candida albicans, важный гриб из рода Candida, который вызывает канди- доз носоглотки (молочницу), вагинит, дерматит и хронические кандидозы (рис. 2.71). Но в то же время этот гриб входит в состав нормальной микробиоты слизистых оболочек верхних дыхательных путей, половых путей. Грибы этого рода образуют псевдогифы в местах обитания в организме человека, в которых им положено быть. Истинные гифы они образуют только при инвазии (проникновении) в ткани.

55.Питательные среды для культивирования микроорганизмов.

1. Исходные компоненты

По исходным компонентам различают натуральные, полусинтетические, синтетические среды. Натуральные среды готовят из продуктов животного и растительного происхождения (мяса, рыбы, молока, овощей, фруктов и др.), поэтому точный состав этих сред неизвестен. Их используют в том случае, когда хотят вырастить различные виды микроорганизмов.

Чаще всего обычно используют полусинтетические среды, в которых ценные пищевые продукты (мясо и др.) заменены непищевыми: костной и рыбной мукой, кормовыми дрожжами, сгустками крови и др.

Примером таких сред могут быть мясопептонные среды, в которые, кроме мясного экстракта и пептона, входят: поваренная соль, фосфат калия. Полусинтетические среды хороши для выращивания определенных групп микроорганизмов, а также для выделения из среды продуктов их жизнедеятельности: антибиотиков, витаминов.

Синтетические среды готовят из определенных химически чистых органических и неорганических соединений, взятых в точно указанных концентрациях и растворенных в бидистиллированной воде. Важное преимущество этих сред в том, что состав их постоянен (известно, сколько и какие вещества в них входят), поэтому эти среды легко воспроизводимы.

2. Консистенция (степень плотности)

Среды бывают жидкие, плотные и полужидкие. Плотные и полужидкие среды готовят из жидких веществ, к которым для получения среды нужной консистенции прибавляют обычно агар-агар или желатин.

Агар-агар – это полисахарид, получаемый из определенных сортов морских водорослей. Он не является для микроорганизмов питательным веществом и служит только для уплотнения среды. В воде агар плавится при 80–100°С, застывает при 40–45°С.

Желатин – белок животного происхождения. При 25–30°С желатиновые среды плавятся, поэтому культуры на них обычно выращивают при комнатной температуре. Плотность этих сред при рН ниже 6,0 и выше 7,0 уменьшается, и они плохо застывают. Некоторые микроорганизмы используют желатин как питательное вещество – при их росте среда разжижается.

Кроме того, в качестве плотных сред применяют свернутую сыворотку крови, свернутые яйца, картофель, среды с селикагелем, каррагинан.

3. Состав

Среды делят на простые и сложные. К первым относят мясопептонный бульон (МПБ), мясопептонный агар (МПА), бульон и агар Хоттингера, питательный желатин и пептонную воду. Сложные среды готовят, прибавляя к простым средам кровь, сыворотку, углеводы и другие вещества, необходимые для размножения того или иного микроорганизма.

4. Назначение

а) основные (общеупотребительные) среды служат для культивирования большинства патогенных микробов. Например, МПА, МПБ, бульон и агар Хоттингера, пептонная вода;

б) специальные среды служат для выделения и выращивания микроорганизмов, не растущих на простых средах. Например, для культивирования стрептококка к средам прибавляют сахар, для пневмококков –сыворотку крови;

в) элективные (избирательные) среды служат для выделения определенного вида микробов, росту которых они благоприятствуют, задерживая или подавляя рост сопутствующих микроорганизмов. Среды становятся элективными при добавлении к ним определенных антибиотиков, солей, изменении рН. Например, среда Эшби является селективной для рода Azotobacter, в среде Виноградского развиваются только нитрифицирующие бактерии.

Жидкие элективные среды называют средами накопления. Примером такой среды служит пептонная вода с рН 8,0. При таком рН на ней активно размножается холерный вибрион, а другие микроорганизмы не растут;

г) дифференциально-диагностические среды позволяют отличить (дифференцировать) один вид микробов от другого по ферментативной активности, например среды Гисса с углеводами и индикатором.

При росте микроорганизмов, расщепляющих углеводы, изменяется цвет среды. Например, на агаризованной среде Эндо образуют малиновые колонии с металлическим блеском – для рода Escherichia;

д) консервирующие среды предназначены для первичного посева и транспортировки исследуемого материала; в них предотвращается отмирание микроорганизмов и подавляется развитие других микроорганизмов.

**Требования к питательным средам.**

1. Среды должны содержать все необходимые для микроорганизма питательные вещества и факторы роста в доступной форме и оптимальной концентрации. Недостаток или избыток питательных элементов неблагоприятен для роста микроорганизмов.

Например: для большинства гетеротрофных микроорганизмов применяют среды, содержащие в среднем 0,8-1,2 г/л амминного азота (в составе NH2) , 2,5-3.0 г/л общего азота (N) , 1 % пептона и 05 % хлоридов в пересчете на NaCl.

2. Среды должны иметь достаточную влажность, обеспечивающую возможность диффузии питательных веществ в клетку. Для грибов эта влажность обеспечивается содержанием 12 % воды, бактериям ее нужно не менее 20 %.

3. Важным фактором является кислотность среды, величина которой различна для разных микроорганизмов. Активная кислотность среды определяется количеством находящихся в ней ионов H+ и обозначается водородным показателем или pH, который представляет собой отрицательный логарифм концентрации водородных ионов. В нейтральной среде, где количество ионов H+ равно количеству ионов OH-, pH=7, в щелочной среде pH больше 7, а в кислотной – меньше 7.

Большинство микроорганизмов развивается при нейтральной или слабощелочной рН. Грибы обычно развиваются в более кислой среде, чем бактерии. Есть среди бактерий кислоустойчивые,

например, молочнокислые, уксуснокислые бактерии, ацидофильные – Acetobacter acidophilus или Thiobacillus thiooxidans, который может выдерживать pH меньше 1. При подкислении питательной среды до pH=4 развитие большинства бактерий практически прекращается, в то время как грибы развиваются нормально. К колебаниям pH в пределах от 6 до 9 бактерии мало чувствительны.

После стерилизации pH сред, как правило, изменяется. Чаще всего происходит подщелачивание среды в результате диссоциации (разрушения) карбонатов. Кроме того, в процессе культивирования микроорганизмов могут выделяться в среду метаболиты, изменяющие pH среды настолько, что рост микроорганизмов существенно замедляется или становится невозможным. Так, при сбраживании глюкозы могут накапливаться органические кислоты, и среда резко подкисляется. Усвоение белков и аминокислот приводит к образованию аммиака, что подщелачивает среду.

Чтобы избежать изменения pH, в среду добавляют буферные системы. Используют фосфатные буферы, обладающие максимальной буферной емкостью в физиологически важном диапазоне около нейтрального значения pH. Фосфатные буферы мало токсичны для микроорганизмов и используются ими также в качестве источника фосфора.

Буферные растворы готовят из двух солей: слабокислой соли – одноосновного фосфата KH2 PO4, которая нейтрализует сильное основание, и слабоосновной соли – двуосновного фосфата K2HPO4, которая нейтрализует образование в среде кислоты.

Иногда в процессе метаболизма микробные клетки образуют кислоту настолько интенсивно, что добавление физиологически возможных количеств фосфатов оказывается недостаточным для сохранения нужного pH, и тогда в среду добавляются карбонаты, которые нейтрализуют избыточные количества ионов водорода, чаще всего мел CaCO3.

5. Среды должны обладать определенным окислительно-восстановительным потенциалом,определяющим насыщение ее кислородом и обозначаемым rh2. По шкале от 0 до 41 этим индексом можно обозначить любую степень аэробности: насыщенный кислородом раствор обозначают rh2=41, насыщенный водородом rh2=0. Анаэробные микроорганизмы размножаются при rh2 не выше 5, аэробные – не ниже 10.

6. Среды должны быть изотоничными для микробной клетки, т.е. осмотическое давление в среде должно быть таким же, как и внутри клетки. Большинство бактерий довольно устойчиво к этому фактору и может расти на средах, содержащих от 0,1 до 10 % NaCl. Исключение составляют некоторые галофильные микроорганизмы, не способные расти при концентрации соли ниже 1%. К таким организмам относятся многие обитатели соленых водоемов.

7. Среды должны быть стерильными, чтобы обеспечить рост чистых культур микроорганизмов. Режим и способ стерилизации среды определяется ее составом.

Поскольку потребности микроорганизмов чрезвычайно разнообразны, нельзя составить универсальную среду, оптимальную для роста всех микроорганизмов. Существуют самые различные по составу и технике приготовления питательные среды. Применяются естественные и искусственные субстраты, начиная от простой водопроводной воды и солевых растворов до сложных экстрактов из эмбрионов животных, из растений, от отбросов (навоз) до полноценных белков человека и животных.

56.Рост микроорганизмов и его количественные характеристики.

Рост микробной клетки – это увеличение размера и массы одной особи между двумя делениями. В результате обменных процессов с окружающей средой и внутриклеточного метаболизма происходит рост и развитие организма. Конечная цель развития м/организма - размножение. Под ростом подразумевается не только рост отдельной клетки, но и большее увеличение числа клеток в результате размножения, т.е. рост культуры микроорганизмов.

Рост микроорганизмов зависит в первую очередь от наличия воды: грибы способны расти на субстрате, содержащий 12% воды, бактериям требуется для роста более 20%.По потребности в воде для роста м/организмы подразделяются на три группы: гидрофиты-влаголюбивые, мезофиты-средневлаголюбивые и ксерофиты-минимально потребляющие воду. Большинство бактерий являются гидрофитами.

В питательной среде должны присутствовать все элементы, из которых строится клетка, и в такой форме, которую микроорганизм способен усваивать. В больших количествах необходимы макроэлементы: сера, фосфор, кислород и микроэлементы: цинк, никель, молибден и др.

Для роста м/организмов требуется и ряд дополнительных условий. микроорганизмы нуждаются:в определенных концентрациях некоторых хим. веществ, особенно водородных ионов;в совершенно определенном соотношении разных ионов;в поддержании определенного окислительно-восстановительного потенциала среды.

Некоторые требовательные м/организмы и мутанты нуждаются кроме того, в отдельных соединениях, которые сами синтезировать не могут. Такие необходимые дополнительные вещества называют факторами роста, их роль могут играть аминокислоты, витамины, пурины.

При удовлетворении всех потребностей в питательных веществах рост м/организмов зависит от определенных условий:рН среды ;температуры;осмотического давления.

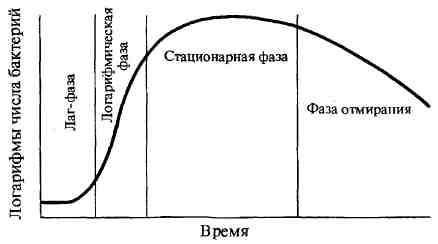
Решающее значение для роста м/организмов имеет pH Среды. Большинство м/организмов лучше растет, когда РН - 7,0. Грибы предпочитают более низкие значения РН.

Рост — это увеличение общей массы в процессе развития, приводящее к постоянному увеличению размеров организма. Если бы организм не рос, он никогда бы не стал больше оплодотворенного яйца.

Рост обеспечивается следующими механизмами: 1) увеличением размера клеток, 2) увеличением числа клеток, 3) увеличением внеклеточного вещества, продуктов жизнедеятельности клеток. В понятие роста входит также особый сдвиг обмена веществ, благоприятствующий процессам синтеза, поступлению воды и отложению межклеточного вещества. Но увеличение массы не всегда приводит к росту (накопление запасных веществ), увеличение объема – ослизнение. **Разножение** – воспроизведение себе подоб-ных. После достижения определенных размеров – деление. Новое поколение – **новая генерация**. Время от возникновения клетки до деления – **время генерации**. **Рост и деление** – два последовательных этапа, иногда их объединяют под термином – развитие. **Способы определения**: 1. прямые - подсчет числен-ности бактерий (камера Горяева, эл/счетчики, ФЭК, нефелометры, м-д предел. разведений), подсчет суммарного веса бакт кл (опред объем центриф, осевшие кл промывают, высуш при 1050 и взвешив 109 кл – 0,32 мг);

2. косвенные методы – связан с **параметрами роста**: **1.** абсолютная скорость ν = dx/dt = (x-xo)/(t-to); **2**. удельная – изме-нение количества м/о в ед времени в пересчете на ед исходной биомассы μ = dx/dt \* 1/xo **3**. Время удвоения биомассы – td=ln2/ μ=0,063/ μ **3**. скорость деления: n – число делений, N – колич кл, No – нач кол кл, то через **.** промежуток врем: N = No\* 2n; lg N = lg No + n lg. Скорость деления ν = (lg N – lg No )/ (t-to) \* lg 2. ν = 3,32 (lg N – lg No )/ (t-to) **4**. Время генерации – величина обратная скорости – время, кот необходимо для 1 цикла деления: g = (t-to)/n. **5.** Урожай культуры – max количество кл или биомасса, которая м.б. получена при задан усл в ед V (кол кл в 1 мл среды, вес биомассы в 1 л среды). **6**.Экономический коэффициент – использ для описания эф-ти процессов роста: Y (%) = Δx/ΔS; где x – измен биомассы, мг СВ/мл, S – конц пит в-в в среде. **7.** Метаболический коэффициент – показ-т на сколько увел-ся метабол. процессы при изм-ии условий: q= μ/φ=1/х dS/dt **8**. Уравнение Моно: μ= μmaxS/S+Ks. **9**. Уравнение Иерусалимского: μ= μmaxКр/Р+Kр **10**. Урав-е Моно-Иерусалимского: μ= μmaxS/ (Ks +Р) +(Kр+Р). **11**. Продуктивность: М=k1k2k3V x/Тэ+Тн , где к1,2,3 –выход целев. прод-та от сод-я его в к.ж., коэф, учит. брак, коэф. заполн-я аппарата, общ. объем биор-ра, конц-я биомассы, оптим. продол-ть культ-я, время затрач. на подг-ку биор-ра.**12**. К-во теплоты выд. м/о: Yккал=Yz/Нz -YzНc, где – кол-во тепла, г кл/ккал, выход биомассы г кл/ г суб-та, тепло выдел. при сгорании суб-та и кл-к, ккал/г. **13.** константа ингибирования – характ чувствительность м/о к ингибиторам роста и численно равна конц ингибитора, замедляющего скорость роста вдвое. Если удел скорость роста завис от конечного продукта (Р), т.е. они являются ее ингибиторами, то она выраж формулой неконку-рентного торможения энзиматич реакций: μ = μ max\* Ki / Ki + P, Ki – конц ингибитора,

**Культивирование** – выращив м/о в исх среде в лаб усл. **Кривая роста**: **1-** лаг ф, ускорение, экспоненциальная ф, замедление, стац. ф, отмира-ние. **Лимитирование** – иногда рост с экспоненц скоростью обрывается, т.к. в среде исчерп источ С, хотя др компон в избытке. Это лимит-е источника С. При внесении рост возобновл. Можно лимитир О2 (для восст-я роста продувают возд или чистым О2). **Игибирование** –а) избыт субстрата (м. наблюд в лаг-фазе), б) продукт обмена, в) посторонние ингиб. **Диауксия** - двухфазный рост на средах, содерж смесь пит в-в (у Е. Coli на среде с 2 ист С).



57.Основные способы хранения микроорганизмов. Хранение посевного материала в условиях промышленного производства.

Задача-поддержание их жизнеспособности, сохранение стабильности таксономически важных признаков,а также определённых свойств, предствляющих интерес для науки и практики. Основой хранения является тормож-е проц-в метаболизма за счет: 1) Дегидратации***,*** 2) Уменьшение доступа О2, 3) Хранение густых суспензий. **1.Периодические пересевы** -(аспорогенные бактерии пересевают 1-2 раза в месяц; спорогенные бактерии, дрожжи, мицеллиальные грибы,аскомицеты-1 раз в 3 месяца). Плюсы метода: визуальный контроль, простота. Минусы метода-возможность заражения, снижение активности продуцентов. **2. Хранение под минеральным маслом**:выращивают на благоприятных питательных средах и заливают минеральным маслом (стерильным, слой в 1-2 см.). При этом замедляется метаболизм, уменьшается доступ О2.Перед использованием масло (вазелиновое) стерилизуют при 251 кПа-30 мин., для удаления влаги подсушивают в сушильном шкафу при t=150C.Температура хранения 5С. Через 1,3,6,12 месяцев определяют выживаемость микроорганизмов. Плюсы метода - длительная сохранность, минусы метода-снижение активности, изменение признаков, разбрызгивание масла ведёт к заражению персонала. **3.Высушивание на воздухе*:*** посредством контактной сушки м/м высушивают на воздухе до влажности 10-12%.Используют сорбенты: стерильная почва, песок. В процессе лиофилизациимикроорганизмы охлаждают до –20-24С и сушат под вакуумом. **4. Хранение при низких и ультраниз. температурах:** Для многих видов применяется глубокое замораживание при t=-70C в рефрижераторах. Для защиты от повреждения используют криопротекторы (глицерин **.** 10%) быстро проникающие через клеточную мембрану и препятствующие замораживанию. 2-х этапный режим замораживания: сначала медленно до -30С, затем до -150С быстро (в газообразном азоте). Ампулы хранят в газообразном при -150C или жидком при -196С азоте. Для восстановления быстро оттаивают при 37С в водяной бане. **5. Хранение в дистиллированной воде или физ. растворе *-*** микроорганизмы смывают с поверхности скошенной агаризованной среды дистиллированной водой или физ. раствором. Густые суспензии разливают во флаконы, закрывают резиновыми пробками и хранят при 4-6С (E.coli, Str. aureus и др.)Бактерии существуют за счёт окисления полимеров (запасных). **Поддержка селекции**включает в себя : рассев на чашки Петри (определяют жизнеспособность клеток). Определяют % нетипичных колоний (должно быть 0,1-1%). Очиска от мутантов поддерживает селекцию. Она включает в себя серию последовательных разведений ,посев на агар. среду, рост в термостате и пересев типичных колоний в пробирки со скошенным агаром. Проверяется продуктивность и отбироются низкоактивные субклоны. Субклоны с типичиой морфологией и стационарным уровнем активности – снова на хранение.

58.Чистые культуры микроорганизмов и методы их получения.

**Ч. к.** – это такая культура, которая содержит м/о одного вида. Под ч.к. понимают клон одной клетки. Культура, содержащая более 1 м/о-смешанная **Выделение ч.к. осуществляется в 3 этапа**: 1)Получение накопительных культур – увеличение кол-ва выделенных м/о в смешанной популяции. Для этого создают оптимальные условия для роста и выживания м/о, при которых он сможет преодолеть конкуренцию других м/о. Методы: физические (температура,регуляция роста,тепл.обработка, УФ); химические (использование токсичных в-в, которые не влияют на выделяемый м/о, использование источников питания); биологические (использование специфических хозяев для данного м/о-для патогенов).Накопит. культуру получают в закрытых средах. Для чистки кул-р от бак-й испол-т пенициллин, от грибов – нистатин.2)Выделение ч.к.: а*) Высев на ч*. *Петри*, выд-ют м/о,образующие на твердых ср.отд. колонии-грибы,бакт.,дрожжи.Принцип метода-пол. чист. культур из отд.колоний. Исп-ют: метод штриха; б) последовательных разведений; в) метод рассева шпателем Дригальского, г) метод глубинного посева (анаэробы уколом).3)Определение чистоты выд-ой культуры. **Контроль чистоты**: 1) визуальный – просмотр по штриху или по скошенной агаризованной среде (по поверхности, должна быть однород.), 2) микроскопирование (готовят препараты фиксирован и окрашен. по грамму кл.), 3) высев на питательные среды – однородность роста м/о, либо на тех где должен расти, либо на те где не должен. **.** **Причины контаминации**: источники: почва (бациллы, споры грибов, актиномицеты – эти м/о могут с пылью попасть в воду, а затем с ней и в среду, или в готовый продукт); вода – энтеробактерии, псевдомонады, цианобактерии; люди - кокки, вирусы, микоплазмы, спирохеты, дрожжи; причины: 1) заражение в лаборатории и цехе, 2) на стадии биосинтеза (среда), 3) несоблюдение асептики при приготовлении посевного материала, отборе проб, получении готового продукта, 4) недостаточная стерилизация; последствия: 1) изменение оптимальных условий биосинтеза (изменение продукта);2)затруднённость обработки культуральной жидкости;3)загрязнение продукта;4)м/о образуют ферменты, разрушающие продукт. **Поддержание чистоты**: соблюдение правил асептики (предотвращение попадания посторонних м/о), механич. защита – удаление мех. примесей из воздуха, с оборудования, физическая защита (t, УФ, Р, ультразвук), химические – антисептики.

59.Периодическое культивирование микроорганизмов. Статические и динамические процессы.

Культивирование-выращивание м/о в культур.среде в лабораторных или производственных условиях. Способы культивирования классифицируют на периодич. и непрерывные. В периодич.выделяют: полунепрерывные способы. В зав-ти от среды культивирования выделяют: культивирование в жидкой среде(жидкофазное) и твердофазное. **Периодическое культивирование** **микроорганизмов** – метод культивирование м/о, характеризующийся однократным засевом среды в начале и одноразовым получением биомассы и продукта в конце процесса, обычно после полного использования субстрата. Большинство процессов микробной б/технологии осущ-ся в жидкой среде.1)поверхностное культивирование, 2)Глубинное культивирование-выращивание м/о-ов ниже пов-ти среды. Периодическое культивирование м/о может быть представлено статическими, динамическими и продленными способами культивирования. Статические процессы осуществляются в стационарных условиях без перемешивания. При этом аэробные м/о обычно развиваются на поверхности жидкой или твердой среды (поверхностное культивирование), например, поверхностный способ жидкофазного культивирования Aspergillus niger для получения лимонной кислоты, процесс осущ-ся в бродильных камерах, где на стеллажах размещают алюминиевые кюветы, заполненные пит.средой.В камеры подается воздух опр. тем-ры и влажности. На дне кюветы им-ся сливной штуцер. Гриб развивается на пов-ти среды в виде пленки. После образования значит-го кол-ва прод-та жидкость из под пленки сливается. Периодические динамические процессы осуществляются с помощью перемешивания и аэрации: в жидких средах на качалках, в биореакторах при помощи мешалки и барботера. Большинство м/б процессов сейчас осущ-ся периодическим глубинным способом культивирования в жидкой среде б/реактора. Так получают антибиотики,витамины,ферменты,орг.к-ты,полисахариды. Твердофазное культивирование (ТФК) – это выращивание м/о в массе измельченного влажного твердого субстрата (опилки, зерно, солома)Достоинства:1)Многие твердофазные процессы менее энергоёмки,трудоемки и материалоёмки. 2)Возможность создания более простой технологии.3)Условия культивирования моделируют естественные условия обитания м/о-ов. Недостатки:1)Большая часть процессов протекает медленнее.2)Осложнён контроль параметров культивирования. ***Технологическими вариантами ТФК*** являются: **статические** 1)компостная куча-выращивание м/о-ов при силосовании, б/газификации(получение метана), 2)поверхностное твердофазное культивирование-выращивание аэробных м/о-ов в тонком пов-ом слое субстрата-в колбах, кюветах,-для получения фер-ов,лим.к-ты., перемешиваемый слой,3) вариант глубинного ТФК в **динамич. условиях**-перемешиваемый слой. Исп-ся для получения ферментных препаратов для нужд пищ. пром-ти.4) культивирование во вращающихся ферментерах-получают ферменты (гидролазы),алкалоиды и микотоксины, выращивая грибы на рисовом,пшеничном зерне,5) Аэрируемый высокий слой. Увлажненный воздух подается через перфорируемое дно. Недостаток: воздух неравномерно распр-ся в слое субстрата и образуются каналы и застойные зоны 6)ТФК с перемешиванием и аэрацией.Апп-ты для культивирования сходны с б/реакторами, предназнач-ми для глуб-го культивирования в жидкой среде. Они содержат перемешивающие устройства и устройства для аэрации,7) псевдожидкая культура-м/о-ы выращ-ся на частицах твердого субстрата, взвешенного в сильном вертикальном потоке влажного воздуха.К **продленным способам культивирования** относятся:1. отъемно-доливной способ, когда порциями в аппарат подается среда и производится отъем культуральной жидкости порциями после накопления определенной конц-ии прод-та (30-60% отливается и заменяется свежей пит.средой).Кривая роста имеет вид гребёнки.;2.периодическое культивирование с подпиткой- метод полунепрерывного регулируемого культивирования. Суть-в опр. время по спец программе в КЖ добавляют отдельные комп-ты пит. среды-р-р сахаров, сульфат аммония, пеногаситель и поддерживают их конц-ию на пост. благоприятном уровне, периодически отбирая опред. объём КЖ;3. диализное культивирование ведут в сосуде, не проницаемой для клеток, но пропускающие растворенные вещества .Ёмкость погружена в пит среду. Из среды поступают пит. в-ва, а в среду переходят продукты метаболизма.4. батарейный способ, когда м/о развиваются в ряду последовательно соединенных ферментеров. КЖ перекачив-ся из одного ферментера в др., а освобожденный ферментёр заправляется свежей пит. средой с м/о-ми (ацетон,бутанол)

60.Непрерывное культивирование микроорганизмов.

***Непрерывное культивирование микроорганизмов*** – это метод проточного культивирования, когда м/о растут в условиях постоянного обновления среды, т.е часть объёма культ.ж-ти постоянно вытекает с той же скоростью,с какой подаётся среда в аппарат. Впервые было применено в 19 в. для получения спиртового уксуса. Преимущества:1)метод позволяет получить большее кол-во прод-та, 2)эффективнее исп-ся оборудование,3)полнее контролируется процесс культивирования 3) сокращает затраты времени на загрузки и мойку обор-я. Метод проточного культивирования может быть организован как процесс полного вытеснения и процесс полного смешения. ***Процесс полного вытеснения*** используется для культивирования анаэробных м/о (в трубчатом ферментере без перемешивания и аэрации) и аэробов (в батарее аэрируемых ферментеров). С одного конца ферментера подается среда и посевной материал, популяция находится в начале своего развития. По ходу трубки или батарей культура «стареет», субстрат исчерпывается, накапливаются продукты метаболизма и вытекающая культура находится в состоянии, аналогичном стационарной фазе роста периодической культуры. Осн.отличительное св-во процесса полного вытеснения это то,что в фер-ре или в батарее ферментеров воспроизводится полная кривая роста, но не во времени, а в пространстве. ***В процессе полного смешения*** рост культур происходит в ферментере при интенсивном перемешивании и аэрации. Особенность:в фер-ре создаются условия, соответствующие одной точке роста культуры.При больших потоках среды эти условия близки к быстрому эксп-му росту, при малых приближаются к условиям стационарной фазы роста культур. В установившемся режиме υ потока среды F (л/ч), отнесенная к единице V культуры в ферментере (л), называется коэф-м (скоростью) разбавления–D (ч -1**). Если культура** нах-ся в устойчивом состоянии (динамическое равновесие) D= μ. D - означает число объёмов среды,прошедших через б/реактор за 1 час. Величина обратная показывает среднее время пребывания м/о в б/реакторе. D>μ-уровень б/массы падает, культура вымывается, D<μ- кол-во б/массы растет. Изменение концентрации биомассы определяется двумя противоположно направленными процессами: ростом клеток и их вымыванием из культиватора.

-основное уравнение проточного культивирования. Процесс полного смешения может быть организован по типу «хемостат» и «турбидостат».

***Хемостатное культ-е*** – это вариант проточного культивирования с заданным желаемым коэффициентом разбавления (D), к которому подстраивается скорость роста культур (μ). При этом задается лимитирующий фактор, который обуславливает ограничение роста биомассы. **Хемостат** – это устойчивая система, способная к стабилизации, т.е. в широком диапазоне скоростей разбавления (D) концентрация субстрата, лимитирующего рост клеток, и величина биомассы остаются по существу на постоянном уровне. **Рост культуры** при проточно-гомогенном культивировании характеризуется хемостатной кривой, изображающей зависимость концентрации субстрата S от разбавления D. На изменение скорости потока культура реагирует соответсвенным изменением концентрации биомассы и концентрации субстрата, не выходя из стационарного состояния.При ***турбидостатном выращивании*** микроорганизмов в культиваторе автоматически поддерживается постоянный уровень биомассы, который по оптической плотности культуры регистрируется специальным прибором, снабженным фотоэлементом. Т.е. задаваемый параметр в системе «турбидостат» - плотность популяции. Скорость накопления биомассы управляет скоростью притока питательной среды. Это отличие от хемостата.

61.Молочнокислые бактерии и их использование в биотехнологии.

***Молочнокислые бактерии*** – Г+, не образуют спор, неподвижны. Единственный признак отнесения к этой группе способность образовывать в кач-ве главного продукта брожения молочную к-ту.

*Род Lactobacillus -*  палочковидные бактерии от коккообразных до длинных нитевидных (L. casei, L. acidofilus – гомоферм., L. bulgaricus – гомоферм., L. brevis- гетероферм.) Они слабо воздействуют на белки и жиры. *Род Leuconostoc* – гетерофермент. мкб, 25-30С, имеют яйцевидную форму, располагаются цепочками. L. decstranicum, L. mesenteroides – продуцент декстрана, L. citrovorum – сквашивание молока. *Род Streptococcus* (термофилус) – гомофермент. мкб, термофильные 40-45С, кокковидные бактерии сфер-ой или овальной формы, распологаются парами или цепочками различной длины. Их делят на 4 группы: 1.пиогенные гемолитические стрептококки, приспособленные к паразитическому образу жизни. 2.зеленящие играют роль в производстве сыров. 3.энтерококки обитают в воде, на продуктах питания, явл показателями сан. состояния. 4. молочнокислые Str. lactis, Str. diacetilactis – запах диацетила. *Род Laktococcus*: пред-ли L. lactis, L. cremoris(сметана) – гомофермент. мкб, кокки в парах или цепочках, опт. роста 25-30С. Род бифидобактерии – Г+ палочки неправильной формы, они имеют булавовидную форму с утолщенными концами, неспорообразующие, неподвижны, анаэробы(B.bifidum). ***Питательные потребности м/к*** бакт. сложны, т.к. слабо развиты биосинтетические способности, им необходимы готовые органич. в-ва: все аминокислоты, витамины гр. В, компоненты нуклеиновых кислот. В природе м/к бакт встречаются в кишечнике человека, в почве, и др. ***Культур-е св-ва***: на агаризованных средах мелкие колонии, поверхность гладкая или шероховатая, колонии не пигментированы, имеют известково-белый цвет (нет цитохрома). ***Физиологич. св-ва***: строгие анаэробы или факультативные анаэробы. О2 они не используют, однако есть флавоноидные структуры, что позволяет использовать О2 для окисления субстратов; **к t**: мезофиллы – 30-40 С, термофилы – 50 С и выше, **к ph**: растут с низкими начениями ph и способны расти при ph=3; спиртоустойчивость м/к бакт., могут расти на средах с 15-18% спирта, некоторые выдерживают до 24%. ***Молочнокислое брожение*** — процесс анаэробного окисления углеводов, конечным продуктом при котором выступает молочная кислота. Название получило по характерному продукту — молочной кислоте. Различают гомоферментативное и гетероферментативное молочнокислое брожение, в зависимости от выделяющихся продуктов помимо молочной кислоты и их процентного соотношения. Отличие также заключается и в разных путях получения пирувата при деградации углеводов гомо- и гетероферментативными молочнокислыми бактериями. *Гомоферментативное молочнокислое брожение.* При гомоферментативном молочнокислом брожении углевод сначала окисляется до пирувата по гликолитическому пути, затем пируват восстанавливается до молочной кислоты(90%) лактатдегидрогеназой. Lactobacillus casei , L. acidophilus , Streptococcus lactis. *Гетероферментативное молочнокислое брожение.* В отличие от гомоферментативного брожения, деградация глюкозы идет по пентозофосфатному пути, образующийся из ксилулозо-5-фосфата глицеральдегид-3-фосфат окисляется до молочной кислоты, а ацетилфосфат восстанавливается до этанола (некоторые гетероферментативные молочнокислые бактерии окисляют полученный этанол частично или полностью до ацетата). Таким образом, при гетероферментативном молочнокислом брожении образуется больше продуктов: молочная кислота, уксусная кислота, этанол, двуокись углерода. L. fermentum, L. brevis, Leuconostoc mesenteroides, Oenococcus oeni .**Применяют** в молочной промышленности для проз-ва кисло-мол продуктов, йогуртов – *Str. termofilus, Lactob. bulgaricum*, сметаны – *Lactococcus lactis, L. cremoris*; В хлебопекарном про-ве при выпечки ржаного хлеба в закваску вводят *Str. diacetilactis*.; При силосовании (биол.консервир-е) кормов – *L. brevis, Pediococcus*. При их росте образуется мол к-та, которая подавляет рост E. coli, Clostridium. В мясной промыш-ти выработка колбас солями (*Str., Lactobacillus*), при солении рыбы(*Str., Lactobacillus*), получение декстрана (из него заменители плазмы, пленки), получение лекарственных препаратов для лечения дисбактериозов (лактобактерин – л. плантарум и ферментум)., получение молоч. к-ты – лактобациллюс, кот-ю исп-т для получ-я пластмасс

62.Перспективы применения микроорганизмов в строительной биотехнологии.

Биотехнологии стали находить применение во многих технологических процессах получения строительных материалов – предварительной обработке сырья, производстве клеев, био-ПАВ строительного назначения и т.д.

Идея создания строительного материала, который восстанавливается самостоятельно, еще недавно была из области фантастики, однако команда ученых Нидерландского Технического университета в Делфте разработала бетон, который может самовосстанавливаться благодаря особым бактериям внутри него.

Микробиолог Хенк Джонкерс, и исследователь бетона Эрик Шлаген, во время исследований подмешали в цемент некие бактерии, и через месяц они обнаружили, что три вида из этих бактерий все еще были жизнеспособными. Тогда ученые добавили в бетон безвредные бактерии под названием Bacillus genus, отличающиеся живучестью и приспособляемостью к любым температурным условиям, которые проявляют активность лишь тогда, когда дождевая вода попадает в трещины. Для регенерации материала эти бактерии используют лактат кальция (компонент молока), который ученые добавили в цемент. При добавлении воды происходит химическая реакция, во время которой образуется известняк. Именно он и заполняет все микротрещины.

Столкнувшись с нарастающей угрозой истощения природных ресурсов и коллапса мировой экосистемы, отношение человека к окружающей среде в некоторой степени меняться. Стали более популярны концепции «профилактики», а не «исправления» содеянного. К профилактическому средству против нарастающей экологической угрозы относится создание и использование на практике таких строительных материалов, которые приводят к максимальному снижению воздействия человека на окружающую среду.

Так, группа испанских исследователей во главе с Антонио Агуадо (Antonio Aguado) из Политехнического университета в испанской провинции Каталонии разработали принципиально новый строительный материал – биобетон, основное отличие которого от обычного заключается в том, что в его состав входят химические компоненты, позволяющие материалу сохранять все свои свойства в условиях прорастания в нем растений.

С его использованием здания можно превратить в настоящие вертикальные сады, поскольку в новом составе вместо обычного связующего вещества – портландцемента – используется фосфат магния, который не только отлично выполняет скрепляющие функции, но и обуславливает наличие кислотной среды, обеспечивающей благоприятные условия для прорастания и развития различных растений, таких как лишайники, мхи и т.п. Здесь они могут свободно расти, без какого-либо вреда для строительных конструкций, преображая при этом внешний вид домов и сооружений. При этом проросшие поверхности хорошо поддерживают процессы естественного очищения воздуха в загазованных мегаполисах.

К основным достоинствам данного биобетона специалисты относят: более высокие теплосохраняющие свойства, чем у обычного; высокие эстетические качества; наличие защитного слоя из растений в зданиях, построенных из биобетона, что создает особый микроклимат. В виду чего специалисты предсказывают необыкновенную популярность биобетона в будущем, особенно в высокоразвитых странах.

Выше уже говорилось о хрупкости бетона, поэтому в ситуациях, когда бетонное строение испытывает серьезные нагрузки, например, землетрясения, существует серьезный риск разрушения сооружения. Сегодня специалистами уже разработан способ укрепления зданий, расположенных в сейсмоопасных районах. Способ этот заключается в том, что придать большую устойчивость зданиям помогут специальные микроорганизмы, превращающие почву в бетон.

Профессор Карлос Сантамарина (Carlos Santamarina) из Технологического института Джорджии утверждает, что использование бактерий для преобразования почвы является одной из самых перспективных строительных технологий XXI века.

Технологию укрепления почвы с помощью живых микроорганизмов разработала группа ученых из Калифорнийского университета под руководством профессора Джейсона Дейона (Jason DeJong). Согласно проведенным исследованиям, бактерия Bacillus pasteuri, добавленная во влажную землю, способствует слипанию содержащихся в ней твердых частиц. Bacillus pasteurii обладают способностью повышать щелочность воды, в результате чего она начинает активно растворять кальций и карбонаты, соли угольной кислоты. В растворе они реагируют друг с другом, образуя кристаллы карбоната кальция: именно это вещество является цементом, который связывает частицы природного песчаника и строительного бетона – кристаллы карбоната кальция заполняют промежутки между песчинками и заставляют их слипаться друг с другом. Подобному грунту не страшны ни оползни, ни землетрясения.

Сегодня идет активный поиск различных новых альтернативных источников энергии. Микробиологи считают перспективными экологически безопасные, неиссякаемые и дешевые микробные топливные элементы. Принцип их работы основан на способности бактерий к перевариванию органики.

В этом направлении работает и группа исследователей Бристольского Университета Западной Англии (UWE), которая разрабатывает «умные кирпичи», представляющие собой специализированные биореакторы различного назначения. Основой каждого «кирпича» будут колонии микроорганизмов под названием микробные топливные элементы (MFC), способные в процессе жизнедеятельности разлагать органические или неорганические отходы и генерировать электричество. «Умные» кирпичи позволят стенам генерировать электричество, чистую воду и кислород.

Здания из таких «умных кирпичей» смогут не только поддерживать внутри оптимальную экологическую обстановку, но и обеспечивать себя различными видами энергии. Встроенные биореакторы будут компенсировать отклонения температуры, влажности, содержания углекислого и других газов, а также уничтожать различные органические и неорганические загрязнения.

**Проект EcoLogicStudio:** 3D-печатные живые скульптуры, восприимчивые к человеческой и нечеловеческой жизни. Обе скульптуры разработаны в «сотрудничестве» с живыми организмами — колониями фотосинтетических цианобактерий, H. O. R. T. U. S. XL Astaxanthin.g. **Исследователи из ecoLogicStudio разработали раствор графена** (модификации углерода), который при нанесении на бетон или снаружи здания может разлагать до 70% больше оксида азота (NOx), чем любой другой используемый сейчас материал или покрытие.

Другим не менее перспективным, на наш взгляд, направлением применения биотехнологии для производства древесных пластиков является получение биологического вяжущего на основе технических лигнинов. При совместном нагревании культуральной жидкости, представляющей собой инокулят особого гриба белой гнили (семейство Panus tigrinus) и твердого концентрата технического лигносульфоната при температуре не выше 80°С, в биологически активированной массе возникают полимеризационные процессы, и структура лигносульфоната претерпевает значительные превращения. В результате этого образуются сложные физико-химические связи, формирующие общую структуру биологического вяжущего. Полученный полимер имеет высокую клеящую способность, но не обладает

достаточной водостойкостью.

63.Основные представления о биологически активных соединениях, их биологическое значение и практическое применение.

***Биологически активные вещества* ( *БАВ* )** - *это неорганические ύ органические соединения, общей особенностью которых является высокая активность в небольших количествах.* Среди биологически активных веществ является как низкомолекулярные (например, витамины, алкалоиды), так и высокомолекулярные соединения (например, ферменты, белковые гормоны) . Общей особенностью является высокая активность в небольших количествах. Большинство БАР относят к продуктам вторичного обмена, считая первичными белки, липиды и углеводы. Они не выполняют ни строительной, ни энергетической функции, а обеспечивают изменение скорости обмена веществ, приспосабливая организм к изменениям окружающей среды и осуществляют его защиту от неблагоприятных воздействий. К биологически активным веществам относят *ферменты, гормоны, фитогормоны, витамины, фитонциды, алкалоиды, феромоны, антибиотики* и др.

**Основные группы биологически активных веществ**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Название группы** | **биологическое значение** | **примеры представителей** |
| *ферменты* | БАР, которые способны избирательно катализировать определенную биохимическую реакцию | Оксидоредуктаз, трансферазы, гидролазы, лиазы, изомеразы, лигазы |
| *витамины* | БАР, которые в небольших количествах необходимые для обеспечения жизнедеятельности организмов | Жирорастворимые (А, Е, К) и водорастворимые (В, С) |
| *гормоны* | БАР, которые образуются специализированными клетками и осуществляют эндокринную регуляцию функций организма | Соматотропин, тироксин, адреналин, инсулин, глюкагон, андрогены, эстрогены |
| *фитогормоны* | БАР, которые регулирующие рост и развитие высших растений и грибов, а также играют важную роль в приспособлении растений к меняющимся условиям среды | *Стимуляторы* (ауксины, гиббереллины, цитокинины, брасины) и *ингибиторы* (абсцизовая кислота, этилен, жасмоновой кислота). |
| *алкалоиды* | БАР растительного происхождения, которые играют роль катализаторов и благодаря токсичности защищают растения от поедания | Хинин, кофеин, никотин, морфин, кокаин, атропин, эфедрин, теобромин, стрихнин, колхицин |
| *фитонциды* | БАР высших растений, которые способны убивать или подавлять рост бактерий, грибов, простейших, обеспечивая естественный иммунитет | Аллицин луковых, гексенал грецкого ореха, хлорогеновая кислота моркови и картофеля |
| *феромоны* | БАР животных, выделяемых в окружающую среду и специфически влияющие на поведение, физиологические процессы и метаболизм других особей того же вида | Половые феромоны насекомых, феромоны "тревоги" у рыб |
| *антибиотики* | БАР микробного, растительного и животного происхождения, избирательно подавляющие рост микроорганизмов, а также клеток злокачественных опухолей | Стрептомицин с стрептомицетив, пенициллин со грибов, новоиманин из зверобоя, лизоцим из слюны. |

БАВ - химические вещества, обладающие высокой физиологической активностью при небольших концентрациях по отношению к определённым группам живых организмов или к отдельным группам их клеток.

Биополиме́ры — класс полимеров, встречающихся в природе в естественном виде, входящие в состав живых организмов: белки, нуклеиновые кислоты, полисахариды, лигнин. Биополимеры состоят из одинаковых (или схожих) звеньев — мономеров. Мономеры белков — аминокислоты, нуклеиновых кислот — нуклеотиды, в полисахаридах — моносахариды.

В целях классификации все БАВ разделяют:

• на эндогенные; К эндогенным БАВ можно отнести: белки, жиры, углеводы, аминокислоты, витамины, ферменты, гормоны, красители.

• экзогенные.

64.Витамины, их классификация, биологическое значение и применение.

Витамины – это биологически активные органические соединения различной химической структуры, которые, присутствуя в ничтожных концентрациях оказывают свое действие на обмен веществ.

Общие свойства витаминов:

-они не синтезируются в организме человека и, следовательно, должны поступать с пищей;

-они не являются ни пластическим, ни энергетическим материалом, но обеспечивают нормальный метаболизм, т.е. пластические и энергетические процессы без них невозможны;

-обладают высокой биологической активностью, следовательно, потребность в них очень маленькая (измеряется миллиграммами);

-это соединения различной химической природы, но обязательно низкомолекулярные;

Известно 3 состояния связанные с витаминами:

1 – авитаминоз - полное отсутствии витаминов в кормах.

2 - гиповитаминоз - недостаток витаминов в кормах.

3 – гипервитаминоз – избыточное поступление витаминов с кормом.

Существует отдельная группа - антивитамины. Они могут вступать в конкурентные отношения с витаминами, занимать их место в структуре фермента. Антивитамины не могут выполнять функции витаминов. Это связано с их строением. Поэтому может возникнуть авитаминоз. К антивитаминам относят также вещества, которые связываются с витаминами или разрушают их (овидин, сульфаниламидные препараты). Витомеры – группа в-в сход. по стр-ю и дей-ю, но различ. по силе биол. возд-я. Авитаминоз - отсутствие витаминов. Гиповитаминоз-недостаток витаминов. Гипервитаминоз - избыток витаминов (может вызвать аллергию и другие проблемы).

Витамин А – жирорастворимый витамин (ретинол-А1, ретиналь-А2, ретиноевая кислота-А3). Содержится в основном в продуктах животного происхождения(печень, яичный желток, в растениях представлен провитамином- β-каротин). Функции: входит в состав зрительного пигмента – родопсина, необходим для развития эпителия, для нормального роста организма, участвует в борьбе с вирусами. Недостаток витамина приводит к кератозу, куриной слепоте, сухости роговицы глаза. Витамин В1 – тиамин (водорастворимый). Состоит из пиримидина и тиазола. Этот витамин синтезируется растениями и м/о. Участвует в обмене углеводов. Недостаток приводит к нарушениям углеводного обмена, проблемам с пищеварительной, нервной, сердечнососудистой системой. Содержится в злаковых, в хлебе, пивных дрожжах. Витамин В2 (рибофлавин) состоит из рибитола и азоаллоксазина. Синтезируется растениями, участвует в транспорте водорода, принимает участие в тканевом дыхании. Недостаток витамина приводит к проблемам с кожей, со зрением. Большое количество витамина содержится в бобовых, дрожжах, мясо-молочных продуктах. Витамин В6 (пиридоксин, пиридоксаль, пиридоксамин), синтезируется растениями, м/о. Недостаток вызывает анемию, дерматит, судороги. Участвует в реакциях переаминирования и дезаминирования. Витамин В12 (кобаламин). Состоит из 2 частей: Со-содержащей и нуклеотидной. Витамин синтезируется м/о и животными клетками. Много этого витамина синтезируется пропионовокислыми бактериями. Витамин участвует в переносе одноуглеродных фрагментов, вместе с фолиевой кислотой выполняет кроветворную функцию. Недостаток вызывает злокачественную анемию, нейродермит. Витамин В13 - оротовая кислота, присутствует во всех тканях (раст. и жив.). Участвует в синтезе аспарагиновой кислоты. Витамин В15 - пангамовая кислота. Является донором метильных групп. Стимулирует окислительные процессы. Присутствует в дрожжах. Витамин С - аскорбиновая кислота, растения синтезируют её из галактозы, а животные (кроме приматов и мор. свинки) из глюкозы. Участвует в реакциях гидроксилирования. Недостаток вызывает цингу, снижение иммунитета. Витамин D2 - кальциферол. Обладает антирахитным действием. Эргокальциферол (D2) и холекальциферол (D3) регулируют обмен Са и Р. Недостаток ведёт к нарушению минерализации костей (рахит). Витамин Е – токоферол, является антиоксидантом. Недостаток ведёт к мышечной дистрофии, некрозу печени, бесплодие, анемия. Витамин Н - биотин, состоит из тиофена, мочевины, валериановой кислоты. Является фактором роста для м/о. Входит в состав активного центра карбоксилаз, участвует в процессе синтеза липидов. Авитаминоз бывает редко. Содержится в мясомолочных продуктах, печень. Недостаток ведёт к дерматиту, шелушению кожи. Фолиевая кислота (фолацин) В9 - участвует в обмене аминокислот, в биосинтезе пуриновых и пиримидиновых оснований. Дефицит ведёт к анемии, нарушению роста. Содержится в землянике, дрожжах, овощах. Витамин В5-пантотеновая кислота - участвует во всех обменных процессах белков, липидов и углеводов. Недостаток вызывает поражение кожи, поседение волос, замедление роста. Витамин К1 (филлохинон) - один из факторов свёртывания крови. Витамин РР-ниацин(никотинамид, никотиновая кислота) - участвует в окислении орг. кислот. Недостаток ведёт к пеллагре. Много витамина содержится в пиве. Биофлавоноиды. Витамин Р - кверцитин, распространён в овощах и фруктах. Обладает противовоспалительным эффектом, антиаллергенным, расширяет сосуды (снижает давление). Другой биофлавоноид - рутин. Витаминоподобные соединения участвуют в биохимических процессах не только, как предшественники коферментов, но и могут служить основой для биосинтеза отдельных групп соединений. Холин - донор метильных групп, участвует в биосинтезе метионина. Содержится в яичном желтке и др. Липоевая кислота - используется в медицине против атеросклероза, заболеваний печени, сахарном диабете. Карнитин - участвует в трансмембранном транспорте. Витамин U (метилметионин) - содержится в капустном соке, полезен при язве желудка, гастрите. ПАБК (парааминобензойная к-та)- является составной частью витамина фолиевой кислоты. Для ПАБК характерны р-ции как с участием функциональных групп, так и замещения в бензойное кольцо. Атомы Н2 легко замещаются, способствуя синтезу фолиевой к-ты, пиримидинов. Получают из нитробензойных к-т, является ростовым фактором для м/о, антивитамином является сульфамидные препараты. Содержится в дрожжах, печени, молоке.

65.Гормоны, их классификация и принцип действия.

**1.По химической классификации все гормоны можно разделить на 3 группы:**

|  |  |
| --- | --- |
| Хим. структура | Представители |
| Аминокислоты | Тирозин - тироксин и родственные гормоны щитовидной железы, катехоламиновые гормоны (адреналин)  Триптофан - мелатонин |
| Пептиды и белковые гормоны:  -Полипептидные  -простые белки  -сложные белки | Глюкагон, вазопрессин  Инсулин, соматотропин  Тиреотропин, фоллитропин |
| Стероидные гормоны | Кортикостероиды, половые гормоны, стероны витамина D |

**2. По механизму передачи сигналов гормоны делят на:**

- Пептидные гормоны и адреналин: они не проникают через мембрану, а связываются с рецепторами мембран.

- Стероидные гормоны, являясь гидрофобными соединениями, проникают через мембраны и в клетке связываются со своим рецептором.

**3. Классификация гормонов по их биологическим функциям:**

- Гормоны, регулирующие обмен углеводов, жиров, аминокислот;

- Гормоны, регулирующие водно-солевой обмен;

- Гормоны, регулирующие обмен кальция и фосфатов;

- Гормоны, регулирующие репродуктивную функцию;

- Гормоны, регулирующие функции периферических эндокринных желез

**4. По растворимости гормоны делятся на:**

- Гидрофильные: имеют пептидную природу или являются производными аминокислот; способны накапливаться в клетках желез; не проникают в клетку; связываются с рецептором, находящимся на мембране; транспортируются в потоке крови без переносчиков.

- Липофильные: секретируются в кровь сразу после синтеза; проникают через мембрану; связываются с внутриклеточными рецепторами; регулируют транскрипцию отдельных генов; транспортируются с белками переносчиками

**5. Классификация по месту синтеза:**

• Гипоталамус (кортиколиберин, тиреолиберин, гонадолиберин, соматолиберин, соматостатин).

• Гипофиз - СТГ, АКТГ, ЛТГ, ТТГ, МСГ, ФСГ, ЛГ, АДГ, окситоцин.

• Эпифиз – мелатонин.

• Щитовидная железа – тироксин (Т4), трийодтиронин (Т3 ), тиронамин, тиреокальцитонин.

• Паращитовидная железа – паратгормон.

• Тимус (вилочковая железа) - тимозин, тимопоэтин, тимулин.

• Поджедлудочная железа - инсулин, глюкагон, амилин.

• Надпочечники - кортизол, адреналин, альдостерон, эстрадиол, эстриол, тестостерон.

**6. Классификация по влиянию на процессы обмена:**

синтеза (анаболические гормоны) - гормон роста, тестостерон, эстрогены, инсулин

распада (катаболические гормоны) – кортизол, тироксин

**7. Классификация по месту действия:**

-Системные – разносятся кровью и лимфой по всему организму – истинные гормоны (г.щит.ж, надп-ов)

-Местные – действуют в том месте, где образовались (г.ЖКТ)

**8. Классификация по функциональному признаку:**

-эффекторные (оказывают влияние непосредственно на объект-мишень)

-тропные (регулируют выделение и синтез эффекторных гормонов, например, тиреотропный гормон)

-релизинг-гормоны: либерины/статины-стимулируют/тормозят процессы синтеза и выделения гормонов

- клеточные (вырабатываются отдельными клетками, остаются и действуют в месте образования)

- тканевые (образуются в клетках и действуют на окружающие ткани)

Гормоны имеют общие **биологические свойства**:

- дистантность действия, т.е. регулируют обмен и функции эффекторных клеток на расстоянии;

- строгая специфичность биологического действия, т.е. один гормон нельзя целиком заменить другим;

- высокая биологическая активность – для проявления эффекта достаточно малого (десятка микрограмм) количества гормона;

- быстро разрушаются и должны постоянно образовываться;

- действуют только на живые клетки.

Номенклатура: Чаще применяют для гормонов тривиальные названия, которая указывает либо на источник гормона, либо отражает его функцию.

Схема взаимосвязи регуляторных систем организма. 1 - синтез и секреция гормонов стимулируется внешними и внутренними сигналами; 2 - сигналы по нейронам поступают в гипоталамус, где стимулируют синтез и секрецию рилизинг-гормо-нов; 3 - рилизинг-гормоны стимулируют (либерины) или ингибируют (статины) синтез и секрецию тройных гормонов.гипофиза; 4 - тройные гормоны стимулируют синтез и секрецию гормонов периферических эндокринных желез; 5 - гормоны эндокринных желез поступают в кровоток и взаимодействуют с клетками-мишенями; 6 - изменение концентрации метаболитов в клетках-мишенях по механизму отрицательной обратной связи подавляет синтез гормонов эндокринных желез и гипоталамуса; 7 - синтез и секреция тройных гормонов подавляется гормонами эндокринных желез; ⊕ - стимуляция синтеза и секреции гормонов; ⊝ - подавление синтеза и секреции гормонов (отрицательная обратная связь).

АДЕНИЛАТЦИКЛАЗНЫЙ МЕХАНИЗМ:Циклический АМФ (циклоАМФ, цАМФ) образуется в клетке, когда действуют гормоны гипофиза (ТТГ, ЛГ, МСГ, ФСГ. АКТГ), кальцитонин, соматостатин, глюкагон, паратгормон, адреналин (через α2- и β-адренорецепторы), вазопрессин (через V2-рецепторы).

Механизм наработки цАМФ связан с активацией фермента аденилатциклазы и называется аденилатциклазный механизм:.

**Этапы передачи сигнала выглядят следующим образом:**

1. Взаимодействие лиганда с рецептором приводит к изменению конформации последнего. Это изменение передается на G-белок (GTP, ГТФ-зависимый), который состоит из трех субъединиц (α, β и γ), α-субъединица связана с ГДФ.

2. В результате взаимодействия с рецептором β- и γ-субъединицы отщепляются, одновременно на α-субъединице ГДФ заменяется на ГТФ.

3. Активированная таким образом αs-субъединица стимулирует аденилатциклазу, которая начинает синтез цАМФ.

4. Циклический АМФ – вторичный мессенджер – в свою очередь связывается с регуляторными (R) субъединицами протеинкиназы А и вызывает их диссоциацию от каталитических. В результате каталитические (C) субъединицы становятся активными.

Протеинкиназа А (ПК А) фосфорилирует ряд ферментов, среди которых киназафосфорилазы гликогена и др.

5. Наработка цАМФ продолжается некоторое время, пока α-субъединица, которая является ГТФ-азой, отщепляет фосфат от ГТФ.

6. Как только ГТФ превратился в ГДФ, то α-субъединица инактивируется, теряет свое влияние на аденилатциклазу, обратно соединяется с β- и γ-субъединицами.

7. Все возвращается в исходное положение.

66.Промышленное получение витаминных препаратов.

Производство витаминов осуществляется следующими основными путями:

1. Экстракция витаминных препаратов из растительного или животного сырья. С этого направления начиналась витаминная промышленность, поскольку первые витаминные препараты были получены именно таким путем. Например, витамин В12 получали из сырой печени крупного рогатого скота, каротин - из моркови. Но в настоящее время доля витаминов, получаемых этим методом, незначительна ввиду очень низкого содержания их в природном сырье и ограниченности сырьевых ресурсов.

2. Химический синтез витаминов. Производство синтетических витаминов занимает, пожалуй, ведущее место в современной витаминной промышленности, поскольку основная номенклатура витаминных препаратов представлена веществами, полученными химическим синтезом из химических видов сырья или сочетанием химического синтеза с биосинтезом. Однако такой способ производства витаминов представляет собой сложный, многоступенчатый процесс, сопряженный с большими производственными затратами, что делает конечные продукты слишком дорогими.

3.Биосинтез витаминов. Некоторые витамины, имеющие сложное строение, химический синтез которых в крупномасштабном производстве невозможен или экономически нецелесообразен, получают исключительно биосинтезом, с применением микроорганизмов, способных к сверхсинтезу и накоплению определенных витаминов. Примером может служить производство цианкобаламина (витамина В12). Микробиологический синтез применяется также в производстве витаминных концентратов, предназначенных для сельского хозяйства, поскольку в данном случае обычно в индивидуальном чистом виде витамины не выделяют.

Следует отметить условность такого деления витаминной промышленности. Производство некоторых витаминов включает и химические стадии и стадии биотрансформации с применением микроорганизмов (например, производство аскорбиновой кислоты). Витамин рибофлавин получают и синтетическим и микробиологическим путями. Некоторые витаминные препараты (например, витамин D2) получают путем химической модификации провитаминов или витаминов, выделенных из растительных клеток или органов животных.

Использование витаминов в качестве добавок в корма животных требует крупномасштабного производства, поэтому возникла необходимость в более дешевых способах изготовления витаминов. Таким перспективным способом получения ряда витаминов оказался микробиологический синтез

Для нормальной деятельности организма животных и птиц необходимо включать в рационы витамины A, D, К, группы В и др.

Микробиологическая промышленность нашей страны выпускает кормовые препараты витаминов В2 и B12. Кроме того, микробиологическим можно считать и производство витамина D2, который образуется из эргостерина при облучении ультрафиолетовым светом кормовых дрожжей.

Производство кормового концентрата витамина В2 (рибофлавин).Витамин В2 входит в структуру многих ферментов, в составе которых участвует в клеточном дыхании, синтезе белков и жиров, регулировании состояния нервной системы, функции печени и т.д. При его недостатке резко замедляется рост, нарушается белковый обмен.

Суточная потребность в витамине В2 составляет для птиц 3 - 4 г (кристаллического препарата) на 2 т корма, а для свиней 10 - 15 мг на 100 кг живой массы.

В природных условиях источниками рибофлавина являются высшие растения, дрожжи, мицелиальные грибы и бактерии. Большинство микроорганизмов образуют свободный рибофлавин.

В 30-е годы XX в. был найден суперпродуцент витамина - микроскопический гриб Eremothecium ashbyii, образующий до 6000 мкг рибофлавина на 1 г сухого вещества культуральной жидкости.

Для получения витамина В2 можно также использовать культуру дрожжей, ацетобутиловые бактерии, продуцент лизина Brevibakterium и др.

Технология получения кормового препарата витамина В2 микробиологическим способом достаточно проста. В качестве микроорганизма-продуцента обычно используют Е. ashbyii.

Технологический процесс производства состоит из трех основных стадий:

1. Аэробная ферментация.

2. Термолиз и концентрирование.

3. Сушка, размол, гранулирование и упаковка.

Посевной материал и стерильный воздух получают по типовой, для многих микробиологических производств, схеме. Ферментация осуществляется в типовых биореакторах объемом 63 - 100 м3 в стерильных условиях при температуре 28 - 30 °С.

Основными ингредиентами питательной среды являются соевая мука, меласса, технический жир и минеральные соли (СаСОз, КН2Р04). Продуцент витамина В2 выращивают также на средах, где источником углерода является глюкоза, сахароза, крахмал, пшеничная мука. В качестве источника азота используют молочную сыворотку, рыбную и кукурузную муку или экстракт, казеин. Развитие гриба-продуцента стимулируется добавлением ненасыщенных жирных кислот, биотина, тиамина, инозита, ростовых веществ, содержащихся в зародыше пшеницы, картофельном соке и дрожжевом автолизате.

Известно использование в производственных условиях питательной среды следующего состава:

- 1 - 3 % мелассы, гидрола или глюкозы;

- 3 - 8 % кукурузного экстракта или дрожжевого автолизата;- добавки N, Mg, Zn.

Культивирование продуцента проводят поверхностным или глубинным способом. Витамин накапливается в клетках гриба-продуцента, либо в виде предшественника - флавина дениннуклеотида, либо в свободном состоянии.

Время культивирования длится 60 - 80 ч до начала лизиса мицелия гриба и образования спор (определяется микроскопически). При этом содержание рибофлавина в культуральной жидкости достигает 1200 мг/л.

Для сохранения штамма Е. ashbyii в активном состоянии рекомендуется производить систематический его рассев на твердые питательные среды и отбирать колонии наиболее .интенсивно окрашенные в оранжевый цвет. Яркая окраска колонии коррелирует с высокой способностью к синтезу рибофлавина.

При подготовке инокулята гриб пересевают последовательно по схеме:

посев на скошенную агаризованную среду в пробирке > жидкая среда > колба > бутыль > инокулятор

Винокуляторе культуру выращивают в течение 21-26 ч. затем ее переводят а биореактор с питательной средой, содержащей кукурузную и соевую муку, кукурузный экстракт, свекловичный сахар, КН2РО4, СаСОз, NaCl и технический жир.

Среду стерилизуют в смесителе при 120 – 122 °С в течение 1 часа. Культивирование в биореакторе ведут до начала лизиса клеток и появления спор (определяют микроскопически). Температура культивирования 28 - 30 °С, давление воздуха в биореакторе (1 - 2) - 104 Па, расход воздуха 1,5 -2,0 л в минуту на 1 л культуральной жидкости. Выход рибофлавина около 1200 мг/л.

По окончании процесса ферментации культуральную жидкость вместе с мицелием передают в вакуум-выпарные аппараты (10), где ее нагревают до 80 °С с целью разрушения (термолиза) клеточных структур и одновременно ведут процесс концентрирования (упаривания) до содержания сухих веществ 30-40 %.

Полученный после упаривания концентрат в виде сиропообразной биомассы высушивают в распылительной сушилке до содержания влаги не более 8 %. В результате получают смесь биомассы мицелия Е. Ashbyii и сухих остатков питательной среды. Для получения однородного товарного продукта смесь размалывают и просеивают. На современных предприятиях концентрат гранулируют, поскольку порошкообразный продукт сильно пылит, что создает неудобства работы с ним и приводит к его потерям.

Кормовой концентрат витамина В2 представляет собой обработанную, высушенную, размолотую или гранулированную биомассу гриба-продуцента Е. ashbyii, содержащую не менее 15 мг рибофлавин на 1 г вещества. Помимо витамина В2, концентрат содержит 0,3- 0,5 % других витаминов группы В (В1, В6, В12, никотинамид), около 20% белковых веществ, а также полисахариды, липиды, минеральные соли.

Для животноводства можно получить кормовой рибофлавин как отход при производстве ацетона. Продуцентами витамина при этом являются ацетобутиловые бактерии.

Преимущество и рентабельность микробного синтеза витамина В2 иллюстрируется следующими цифрами: из 1 т моркови получают 1г витамина, из 1 т тресковой печени - 6 г, а из 1 т культуральной жидкости гриба E.ashbyii - 25 кг.

Производство витамина В12(цианкобаламина).Среди неполимерных биологически активных соединений витамин В12 имеет самое сложное строение. Его принятое химическое название α-(5.6-диметилбензимидазолил)-кобамидцианид. Это единственный витамин, в структуру которого входит кобальт.

Организм животных не способен к самостоятельному синтезу витамина В12. Этот витамин полностью отсутствует в растительных кормах в относительно небольших количествах содержится в кормах животного происхождения (рыбной и мясо-костной муке, молочных отходах). Среди растительного мира витамин В12 был обнаружен лишь у нескольких видов высших растений (горох, фасоль, побеги бамбука), причем его происхождение в этих растениях окончательно не установлено.

Цианокобаламин обладает высокой биологической активностью с широким спектром действия. В первую очередь, витамин B12 необходим для нормального кроветворения и созревания эритроцитов, он является эффективным противоанемическим препаратом. Цианкобаламин применяют для лечения злокачественного малокровия, железодефицитных анемий, апластических анемий и т.п. Этот препарат назначают также при лучевой болезни, заболеваниях печени, полиневритах, болезни Дауна, детском церебральном параличе и многих других заболеваниях.

Для медицинских целей субстанцию витамина B12 получают в виде кристаллического тёмно-красного порошка, содержащего не менее 99% основного вещества. Из этой субстанции готовят различные лекарственные формы, из которых наиболее широкое применение находят цианкобаламин в изотоническом растворе хлорида натрия для инъекций, и таблетки, содержащие цианкобаламин и фолиевую кислоту.

Важное значение витамин B12 имеет для животноводства. Его недостаток тормозит рост животных и приводит к серьезным заболеваниям. Цианкобаламин повышает усвояемость белка растительных кормов и является необходимым фактором полноценного питания животных.

Для животноводства отечественной промышленностью выпускается кормовой концентрат витамина В12 (КМВ-12), который по эффективности не уступает кристаллическому препарату, но является более дешевым и доступным для широкого использования в сельском хозяйстве.

Полный химический синтез витамина В12 был осуществлен через 25 лет после его открытия Р. Вудвордом и А. Эшенмозером с участием большой группы исследователей нескольких лабораторий университетов и научных центров США, Англии, Франции, Японии. Конечно, химический синтез витамина В12 имеет чисто теоретическое значение и в настоящее время он не может рассматриваться как вариант промышленного производства этого важного препарата.

Единственным способом получения витамина В12 в промышленном масштабе является его микробиологический синтез с использованием специальных штаммов микроорганизмов, способных активно продуцировать этот витамин.

В природе витамин В12 синтезируют многие микроорганизмы (например, метанобразующие и пропионовокислые бактерии), а также бактерии,осуществляющие термофильное метановое сбраживание сточных вод.

Активно продуцируют витамин В12 представители рода Pzopionibacterium, природные штаммы которых образуют 1,0 - 8,5 мг/л цианокобаломина, а полученный искусственный мутант P. shermanii M-82 способен накапливать витамин В12 до 58 мг/л.

Практический интерес для микробиологического синтеза этого витамина имеют представители актиномицетов и родственных микроорганизмов. Истинный витамин B12 в значительных количествах синтезируют Nocardia rugoza (до 18 мг/л), а также представители рода Miromonospora. Высокой кобаламинсинтезирующей активностью обладают метаногенные бактерии, например, Methanosarcina barkeri, M. vacuolita и отдельные штаммы галофильного вида Methanococcus halophilus (до 16 мг/л).

Цианкобаламин синтезируют строго анаэробные бактерии из рода клостридий. В значительных количествах образуют витамин B12 ацетогенные клостридии C.thermoaceticum, C.formicoaceticum и Acetobacter woodi, синтезирующие ацетат из СО2.

Известны активные продуценты витамина Bi2 переди псевдомонад. Некоторые штаммы Pseudomonas denitrificans нашли применение для промышленного получения цианкобаламина (фирма Merk, США). Интерес представляют также термофильные бациллы, а именно Bacillus eirculans и Bacillus stearothermophilus, которые растут при температурах, соответственно, 60 °С и 75 °С и за 18-24 культивирования без соблюдения стерильных условий дают высокие выходы витамина.

В нашей стране в качестве основного продуцента витамина В12, получаемого для медицинских целей, используют культуру Propionibacterium shermanii, а для нужд животноводства применяют смешанную культуру, содержащую термофильные метанобразующие бактерии.

На большинстве зарубежных предприятий витамин В12выпускают в чистом кристаллическом виде и применяют в животноводстве большей частью в виде компонентов премиксов.

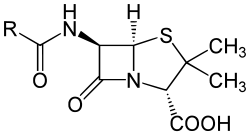
67.Понятие об антибиотиках и их классификация. Применение антибиотиков в медицине и народном хозяйстве.

1929 год – Флеминг открыл, что Penicillium notatum выделяет в культуральную жидкость в-во антибиотического действия, которое было названо им пенициллин. 1940 год – Чейн, Флори получили в чистом виде пенициллин. 1942 год – Ермольева получила отечественный пенициллин. Промышленный продуцент – P. chrysogenum. В1942 году вводится понятие антибиотики Ваксманом. Дословно оно означает «против жизни». **Антибиотики** – это специфические продукты жизнедеятельности или их модификации, обладающие высокой физиологической активностью по отношению к определенным группам микроорганизмов или к злокачественным опухолям избирательно задерживая их рост или полностью подавляющее их развитие. Полусинтетич. антибиотики – это аналоги природных, получ. в рез-те их хим. модификации. Напр., бензилпенициллин – природ., а ампициллин – полусинтетич. **Клас-ция.** Антибиотики широкого спектра (на большое количество видов, тетрациклин – г+ и г- б-ии) и узкого спектра (на небольшое количество видов, бензилпинициллин – г-б-ии) действия. По отнош-ю к м/о: Бактериостатические, фунгистатич. (задерживают рост и размножение м/о) и бактерицидные, фунгицидн. (убивают) антибиотики. Модификация используется для изменения структуры природных (бензилпенициллин) антибиотиков и получают полусинтетические (ампициллин) антибиотики. В медицине используется около 160 видов антибиотиков. Побочное действие: токсические реакции (поражение печени - тетрациклины), нефротоксическое действие на почки - стрептомицин и его аналоги, дисбактериоз, действие на иммунную систему, проявление аллергических реакций, т.е м/о погибают раньше чем они выполняют ту или иную функцию. **Классификация по биологическому происхождению:** 1. образованные бактериями – низин (Streptococcus lactis), субтилин, 2. образованные не совершенными грибами- пенициллин (Penicillium phrysogenum)3. образованные водорослями- хлореллин (хлорелла)4. животного происхождения – экмалин (из рыб). 5 высш. раст-й – амицин(чеснок), рафанин(редис). По биолог. дей-ю: 1. антибактериал. (пенициллин), 2. Противогрибковые – нистатин, грезиофульвин. 3. Противоопухолевые – актиномецин, рубомицин. 4. противоамебн. – фумагилин. 5. антипаразитарн. – авермектин. **По механизму биологического действия:** 1. нарушают синтез клеточной стенки – пенициллины,нарушают образование сшивок между пептидными хвостами пептидогликанов. 2. Нарушающие функции мембран – нистатин, адсорбируется на стеролах цитоплазматической мембраны, увеличивается проницаемость мембраны. 3. Подавляющие синтез н/к (противоопухолевые-хинолоны). 4. Подавляющие синтез белка – тетрациклины, эритромицин. **По химич. природе:** 1.- лактамные а/б – пенициллины, цефалоспорины. 2. Тетрациклины. 3. Аминогликазиды – им-т гликозид. связи- стрептомицин, канамицин.4. макролиды- макроциклич. лактомн. кольцо, связ. с углевод. ост-ом - эритроимцин, олиандомицин. 5. полипептиды – лизин, сукценил. 6. Полиены – много сопряженных двойных связей – нистатин. **Продуценты ан-ов:** Бактерии, Актиномицеты, Грибы продуценты.

**Применение.** 1. Применяются в с/х, животноводстве, пчеловодстве, растениеводстве. Авермектины – ветеринария. Антибиотики как стимуляторы роста птиц и животных. Трихотицин используется против грибковых заболеваний, против мучнистой росы огурцов, плодовых, корневых гнилей зерновых. 2. В пищевой и консервной промышленности в качестве консервантов скоропортящихся продуктов – низин (лактококус лактис), распадается до а/к, нетоксичен, субтилин – бациллюс субтилис. 3. В парфюмерной пр. для предохранения косметических средств от разрушения. 4. Используются как защитные средства от биоповреждений промышленных материалов и изделий – нистатин. 5. Медицина.

68.Антибиотики, образуемые грибами.

Мицелиальные грибы образуют около 1200 антибиотиков, большое кол-во образ-ся несовершенными грибами. Наибольший интерес – пенициллины и цефалоспорины. Пенициллины: 1929 год – Флеминг открыл, что Penicillium notatum выделяет в культуральную жидкость в-во антибиотического действия, которое было названо им пенициллин. 1940 год – Чейн, Флори получили в чистом виде пенициллин. 1942 год – Ермольева получила отечественный пенициллин. Промышленный продуцент – P. chrysogenum.

 **В процессе глубинного культивирования в жид.среде различают 6 возрастных фаз развития гриба**:1-3- периоды роста, 4-6-периоды образования антибиотика. В процессе роста этого продуцента 3 фазы: 1) Рост мицелия – высокое потребление всех питательных компонентов среды, накопление биомассы. Выход антибиотика низкий. 2) максимальное образование пенициллина – потребление сахаров, аммиака, из этих соединений образуется антибиотик. 3) Начинается автолиз мицелия. **Условия образования:** 1) оптимальная питательная среда: кукурузный экстракт, соевая мука – источник азота и белка, добавляют нитрат аммония и др.; углеводы: лактоза –медленно утилизируемый источник, глюкоза – легко доступный на нач. этапах, для роста; сера – Na2SO4, Na2S2O3 – входит в состав молекулы антибиотика; масла и жиры – для борьбы со вспениванием и как питательные в-ва. 2) Наличие предшественника – он включается в молекулу пенициллина и образует антибиотик преимущественно желаемый . (предшественник бензилпенициллина – фенилуксусная кислота, фенилацетамид). Опт. t=20-30˚С, степень аэрации – около 1 л воздуха на литр питательной среды, рН =7,0-8,0. **Спектр действия:** на грам+ бактерии - стафилококки, стрептококки (инфекции верхних дыхательных путей), грамотрицат. кокки – менингококки, гонококки (гонорея). **Механизм действия пенициллина**: нарушает синтез пептидогликана ( основного компонента клеточ.стенки), за счет инактивации ферментов, участвующих в образовании поперечных связей между линейными цепями муреина. Побочные действие: аллергические реакции. Принимают внутримышечно, т.к. в ЖКТ разрушается,низкая токсичность. **Полусинтетическое получение**: биологический + химический способ. Исходный продукт – 6АПК (6-аминопенициллановая кислота): Она является результатом биосинтеза гриба P. chrysogenum в среде без предшественника. Ещё её получают при ферментативном дезацилировании бензилпенициллина с участием фермента пенициллиназы. **Стадии получения 6-АПК**: 1) Щелочной гидролиз бензилпенициллиновой соли (БП) в присутствии иммобилизованной пенициллинамидазы, рН = 8,0; Время – 1 – 2 ч, t = 30˚С. 2) Осветляют полученный р-р активированным углём. 3) Проводят осаждение 6-АПК р-ром . HCl 16 – 18%. 4) Фильтруют на центрифуге, затем получают пасту, затем сушат при 40 – 45˚С. 5) Фасовка. На основе 6-АПК получают полусинтетический пенициллин – оксациллин. Стадии его производства: 1) Ацилирование при 6 – 10˚С в течение 1 – 2 часов на основе хлорангидрида; R – присоединяется к 6-АПК и получается оксациллин. 2) Осветление активированным углём. 3) Фильтрация. 4) Осаждение NaCl, в результате получают натриевую соль. **Цефалоспорин:** антибиотик, образуемый грибами рода Cephalosporium на среде неопределённого состава – цефалоспарин С (в среде должны быть обязательно источники N, P). Образование цефалоспарина С происходит при добавлении холина, бетаина. Полусинтетический способ – в результате химической модификации 7-аминоцефалоспороловой кислоты (7-АЦК) получают антибиотики. 7-АЦК – основное ядро цефалоспориновой молеклы. 7-АЦК получают путём химического отщепления остатка аминоадиприновой кислоты от цефалоспорина С. Модификация 7-АЦК позволяет получить большое количество различных полусинтетических антибиотиков. Механизм действия как и у пенициллинов – нарушение синтеза клеточной стенки. Может действовать на грам-отрицательных бактерий.  **Гризеофульвин:** кислородсодержащий гетероциклический антибиотик. Продуценты – Penicillium griseofulvum, Р. urticae, P. nigricans. P. urticae является промышленным продуцентом, антибиотик получают при глубинном культивировании, среда содержит кукурузный экстракт, лактозу и KCl. Это противогрибковый антибиотик. Он действует против грибов, имеющих хитиновую оболочку – ненормальный рост с закручиванием, против стригущего лишая (Trichophiton rubrum). Применяется при кожных заболеваниях, в сельском хозяйстве для борьбы с мучнистой росой, малотоксичен. **Трихотецин** – впервые получен Фрименом и Моррисом в 1948 году. Продуцент – Trichothecium roseum – широко распространён в природе. Широкое противогрибное действие (не проявляется антибактериального); на фитопатогенные грибы, зоопатогенные.

69.Антибиотики, образуемые актиномицетами.

Актиномицеты обр-ют до 70% всех антибиотиков

Аминогликозиды(хим.строение) - содержат в молекуле гликозидные связи, содержат в своей структуре аминосахара.

1. Стрептомицин:противотуберкулезный. впервые 1943 г Ваксман. Продуц: Streptomyces griseus. Оптим. t=26-28. Получают при глубинном культивировании штамма в жид.среде. среда должна сод-ть ист N – дрожж экстракт, мясной бульон, аммонийные соли, Углеводы – крахмал, глюкоза, жив жиры, масла раст, NaCl, Ca, P, Zn, Cu. Аэрация и перемешивание, ph=7. По отношению к стрептомицину – 3 группы орг-мов: 1. Очень чувствительные: Bacillus, Mycobacterium, 2. Умеренно-чувтв-ые – Proteus, aerobacter, 3. Устойчивые – Clastridium. Биол действие – тормозит синтез белка, присоединяясь к рибосоме (к 30S-субъединице). Токсические и лечебное св-ва: при коклюше, туберкулезе, минингите. Аллергические реакции, поражает органы равновесия и слуха, обл. нефротоксическим действием. Быстро выводится из орг, не всас-ся в ЖКТ – вводят в кровь.

2. Тетроциклины широкое примен, шир. спектр действия. м/о продуц: Str. rimosus, Streptomyces. аureofaciens. Широко известные а/б: окситетр-н, 7-хлортетр-н. А) 7-хлортетр-н: открыт в 1948 г. из м/о Str. aureofaciens (аэроб t=26-28о). Глубин. культив-е, в составе сред: углеводы (сахароза, глю, мальтоза), ист N – аммонийные соли, аминок-ты, мясной экстракт, рН=7,0, Р (К2НРО4)- важен для норм роста, ионы Fe – ингибир синтез а/б. Мех-м действия: подавляет синтез белка, образует прочные комплексы с рибосомами. **А/б-ие св-ва и применение**: ряд крупных вирусов, простейших, грам- и + м\о. Для лечения бакт-ных пневмании, гонореи, дизентерии, миненгита, гнойных осложнений. Токсическое действие на печень, раздражающее действие на слизистую оболочку рта и пищевода, вызывает дисбактериозы.

Б)Окситетрациклин. Продуц:Str. rimosus. Впервые выделен 1950 г. По пит средам, биол и фармаколог св-вам схож с Cl-тетр. Важн знач-е оказ молоч к-та на выход а/б. Важн знач: Р. В)Тетрациклин произв-ое Cl-тетр, получ путем удаления атома Cl. Вперв получен 1953 г путем каталитичяеского гидрирования. Его биосинтез могут осущ Str. viridifaciens и мутатн Str. aureofaciens. Пит среда как и у предыдущих, но необх частичное дехлориро-вание сырья (диализ, обр-ка анионитами). По биол и фармак действию: близок к Cl-тетр; он лучше растворим, более устойчив в орг, вызыв < побочных р-ций.

3. Макролиды – наличие макроцикл-го лактонного кольца, связ-го с 1 или неск угл остатками (аминосахарами). Имеет больш малек массу. По биол дейст: 2 гр: а) акт-ть против грам+ м/о, но слабо действ на грибы. Б) антигрибная акт-ть: леворин. А) Эритромицин А, В, С Продуцент Str. erytreus. 1952 г. Обр-ся только биол путем. В сот сред: кукур экстракт, NH4SO4, Na Cl, CaCO3, глюкоза, кошалот жир. Повышает обр-е а/б добавление укс, пропионовой к-ты, т.к. макролидное кольцо конденс-ся из остатков пропионовой к-ты. Применение: лечение инфекций, вызыв-ых стафилакокками, пневмонии стрептококками. сепсиса, скарлатины, ожогов, раневых инфекций.

Подавляет развитие Г+. Механизм действия: подавляет синтез белка. Побочные действие: тошнота, рвота, понос. t=30-31, ph=7

Б) Нистатин Str. noursei (мезофил, аэробы, возд мицелий серый, серо-роз). выделен из почвы в 1950, противомикробный, мембраноповреждающий.Глубинное культив-е на среде с глюк., крахмалом, кукур.экстрктом, соев.мукой и солями. t=28, ph=7. Спектр действия: антигрибковая акт-ть (р. Candida). Мех-м действия: нарушает ф-ции мембран, изменяя их проницаемость.Побоч действие: высокотоксичен.

70.Основные этапы промышленного получения антибиотиков.

А) Основные стадии получения: Подготовка стерильно сжатого воздуха, посевного материала, оборудования, приг-е и стрер-я питат сред, и далее 1.Биосинтез 2.предварит обработка и фильтрация КЖ, разделение на биомассу и нативный раствор 3.выделение и хим очистка 4.получение готового пр-та. **Биосинтез-**осн технологич стадия получения АБ, гл задача его создание оптим условий для развития пр-та и макс биосинтеза АБ. Стерилизация периодич (при небольш обьемах среды, к-я нагревается в ферментерах до 120-30 С и охл-ся до 30),и непрерыв при больших обьемах. Подготовл-ая среда направляется в стерилизац колонну(130 С), далее в аппарат выдерживания(5-10мин) змеевиковый холодильник(до 35 С) далее в биореактор. **Осн условия к питат средам:** сбалансированность, оптимальность, содержание всех необх эл-тов для обр-я АБ. Должна быть хорошо стерилизована, не давать вспенивания, обеспечить выделение АБ более доступным способом; состоять из недорогого сырья; стерильна. Приготовление и стерилизация питательных сред – готовят в спец.ап-ратах, снабжены мешалкой, фильтруют, доводят рН, стерилизуют острым паром или при помощи «рубашки» **Состав сред:** дрожжевой автолизат, кукуруз экстракт, меласса, микроэл-ты(Zn Co Mn) минер в-ва (P S K Na)Источники С:углеводы, орг к-ты, крахмал меласса т.д.**Физ хим факторы**: опт Т(25-30 С), рН нейтр для больш-ва, давление воздуха повышенное до 0,3-0,4атмпозволяет избежать подсос воздуха и заражение культуры; аэрация, кол-во его зав-т от интенсивности дыхания и массы клеток в единицу обьема КЖ. **Подготовка стерильно сжатого воздуха.** Воздух забирается из атм через всасыв фильтр где очищается от грубомеханич примесей, затем в нагнетатель где происх-т его сжатие и повыш-ся Т, далее воздухоохладитель, головной воздуш фильтр, из него в индивидуальный фильтр биореактора, где очищ-ся от мо. **Подготовка посевного материала**-многоступенч процесс, к-ый начинается с лаборат условий. Схема: Исх посевной материал(ПМ), ПМ на скош агариз среде, споровый ПМ во флаконах/колбах, инокулятор, посевной аппарат, осн ферментер. **Подготовка оборудования.** Промывание биореакторов,стерилизация(t = 120 – 126˚С, 1 час, 1 – 1,3 атм, охлажд-т до 60-80), техосмотр аппаратуры, проверка на герметичность. **предварит обработка и фильтрация** КЖ**-**выделение нативного р-ра от биомассы, начальная очистка АБ. **Химическая очистка и выделение**

В зависимости от локализации антибиотика используют разные **методы выделения и очистки** (их две): 1) Если антибиотик находится в культуральной жидкости, то содержимое ферментёра (культуральную жидкость с мицелием) подвергают предварительной обработке (кислот. коаг-ция, тепл. коагуляция, обр-ка эликтролитами, доб-е фильтр- добавок), затем фильтруют (для отделения мицелия), затем получившийся нативный р-р (если там антибиотик (пенициллин)) направляют на экстракцию (она бывает ионообменная или осаждением). 2) Если антибиотик находится в мицелии, то отделённый от культуральной жидкости мицелий собирают, затем производят экстракцию антибиотика из мицелия. Затем экстрагируемый антибиотик осаждают (пример – нистатин). Мицелий отделяют на барабанных фильтрах, большие V-мы – на нутч-фильтрах под вакуумом) и на фильтрах – под давлением или на сепараторах. Затем проводят осаждение взвесей дисперсных частиц. **Химическая очистка:** Выделение проводят при помощи экстракции, осаждения, ионообменной сорбции. – извлечение с помощью р-телей, основанное на различной растворимости антибиотика в 2-х несмешивающихся жидкостях. У пенициллина: 1) первая бутилацетатная экстракция, 2) бикарбонатная экстракция; 3) вторая бутилацетатная экстракция; 4) выделение из бутилацетатного экстракта в виде концентрированного водного раствора калиевой соли; 5) кристаллизация; 6) центрифугирование; 7) сушка.

Осаждение. Образуется нерастворимый осадок (н-р взаимодейст-е тетрациклина с ионами Са в щел.среде). Ионообменная сорбция – если антибиотик имеет заряженные кислотные или основные группы – его пропускают через полимерный ионообменник, антибиотик осаждается на нём. Затем антибиотик десорбируют, сорбент регенерируют (так получают канамицин). Сушка – удаление лишней влаги. Распылительная сушка – в потоке нагретого воздуха; вакуумная сушка; лиофильная – из замороженного состояния под вакуумом. Готовая продукция: готовят и стерилизуют флаконы, колпачки; затем антибиотик дозируют, укупорка, просмотр, стерилизация; наклейка этикеток, упаковка. На наклейках – завод изготовитель, наименование антибиотика, активность, срок годности, дозировка. Антибиотики выпускают в форме ампул, порошков, растворов, таблеток, мазей, супозиториев. Микробиологический контроль: А) Испытание на стерильность: 1) прямой посев на питательную среду, 2) метод мембранной фильтрации. Б) Антибиотик инактивируют и высевают на питательную среду (таблетки, капсулы, мази - на питательную агаризованную среду). В) Определение антимикробной активности – антибиотик диффундирует в агар, на который высевают тест-микроорганизм. Фармакологический контроль: испытание на токсичность – степень чистоты – на подопытных животных. Пирогенность – вводят животным внутривенно, определяют реакции (повышение температуры и другие аллергические реакц), Изм-ют через 1час 3 раза.

71.Получение заменителей плазмы крови на основе декстрана.

Плазмозамещающие растворы – это лекарственные средства, восполняющие дефицит плазмы крови или отдельных ее компонентов. Плазмозамещающие растворы, аналогичные по составу к плазме крови и вводимые в больших количествах, называют инфузионными. Эти растворы способны некоторое время поддерживать жизнедеятельность организма или изолированных органов, не вызывая патологических сдвигов.

Синтетические коллоидные плазмозамещающие растворы включают декстраны, производные желатина и гидроксиэтилированные крахмалы (ГЭК).

Декстран – водорастворимый высокомолекулярный полисахарид [1]. Степень и характер разветвления полимерной цепи во многом зависят от штамма бактерий-продуцентов. Способность синтезировать декстрансодержащую слизистую массу из сахарозы была открыта у бактерий, позже названных «Leuconostoc mesenteroides».

Ферментация проводится на среде с 30% сахарозой, декстраном, дрожжевым экстрактом, минеральными солями. Создаются условия, которые способствуют синтезу той формы декстрана, которая используется в качестве заменителя плазмы, ограничивают содержание магния в среде и вводят «затравку» в виде декстрана. Синтезу способствует замена сахарозы мелассой.

Оптимальное значение рН для роста продуцента лежит в пределах 6,5-8,0. Бактерии расщепляют сахарозу на глюкозу и фруктозу. Фруктоза сбраживается по типу гетероферментативного молочно-кислого брожения с образованием молочной и уксусной кислот, маннита и СО2. Глюкоза полимеризуется в декстран. Процесс идет быстро и продукт можно выделить уже через 24 часа.

Декстран выделяют из культуральной среды метанолом. Для очистки декстран повторно растворяют в воде, переосаждают метанолом и фракционируют [3].

В данном проекте предложен альтернативный способ синтеза плазмозаменителей крови – декстранов. За основу взят кислотный гидролиз с последующим разделением рабочих сред с помощью мембранного разделения, позволяющего минимизировать потери полезного вещества, сократить временные, материальные и энергетические затраты. Метод мембранного разделения декстранов основывается на баромембранных процессах. Движущей силой в них выступает разность давлений над и под мембраной.

Для изготовления ультрафильтрационных мембран использовали полисульфон. Изготовили формовочные растворы с различным процентным содержанием как полимера, так и порообразователя. Для моделирования промышленного процесса выделения декстранов в лабораторных условиях водный раствор Blue Dextran подвергался ультрафильтрационному разделению с помощью мембран. Для изготовления мембран выбран метод инверсии фаз.

В ходе выполнения данного проекта изготовлена серия мембран на основе полисульфона из формовочных растворов, обладающих разным составом. и разделительные характеристики.

Автором работы предложен альтернативный способ получения плазмозаменителей на основе декстрана за счет мембранного фракционирования. Данный способ получения плазмозаменителей исключает использование вредных органических растворителей и отличается высокой эффективностью и экономичностью.

72.Крахмалопаточное производство: характеристика основного сырья и готовой продукции, технологическая схема производства.

Крахмал – смесь полисахаридов (D-глюкоза в её -D изомерной форме). Различают клубневый крахмал (картофель), зерновой (зерно злаков, кукурузы). Полисахариды включают 2 фракции: амилоза-25% и амилопектины-75%. Они различаются Mr массой и физ-хим. свойствами. Получают картофельный крахмал влажн-ю 20% и кукурузный – 13%. Он находит примен-е в кондитерской, хлебопекарной, мясомолочной, химико-фармацевтической промышленности, для технических целей (производство декстрина),текстильная про-ть. Выдел-ют 4вида: экстра, высший, 1-й, 2-й. Сырье: свежий картофель с высок. содерж-ем сух.вещ-в(25%), 75% воды, из них 18,5% крахмал, азотис. в-ва. клетчатка, мин. в-ва, пектин. в-ва Картофель хранят в буратах t=2-8oC не более 5-7 мес. т.к. кол-во крахмала снижся. Подаётся с пом-ю гидравлич.конвеера,где удаляют примеси, земля.

Технологич. схема:1.Доставка карт-ля на завод; 2.Мойка и взвеш-е; 3. Измельчение картофеля,получ-е картоф. кашки; 4.Выдел-е клеточн. сока из кашки; 5.Получ-е мезго-крахм-го молока; 5.Осажд-е и очистка крахмала, промывание, рафинирование крахмального молока 6.Сушка крах-ла; 7.Упаковка и хран-е. Выход пр-та 16%, коэф. извл-я – 85-88%. МОЙКА имеет большое знач-е, т.к. на следующих стадиях картофель не очищают от кожуры. Моют в моечных машинах, имеющих камеры. ИЗМЕЛЬЧЕНИЕ- проводят для разрушения клеточн. стенок для извлеч-я крахмальн. зёрен. Измельчают на тёрочных машинах. Измельчение проводят дважды. Получают картофельную кашку состоящую из разорванных крахмальных зерен и картоф сока; ВЫДЕЛЕНИЕ КАРТОФЕЛЬНОГО СОКА кашка разбавляется Н2О и подаётся на центрифуги. ВЫДЕЛ-Е СВОБОДНОГО КРАХМАЛА ИЗ КАШКИ И ПРОМЫВАНИЕ МЕЗГИ –после отделения картоф сока на центрифугах кашку направляют на ситовую станцию завода. От нее отделяют и промывают крупную и мелкую мезгу, осаждают и промывают крахмал. Для удаления из кашки мезги используют центробежные ситовые аппараты. После отделения мезги крахмальная суспензия содержит некоторое кол-во мелкой мезги от 4%, водорастворимые вещ-ва до 0,5% и сильно разбавленного картоф сока. Поэтому ее подвергают рафинированию на центробежных и дуговых ситах, концентрация рафинир суспензии 7-9%.Рафинирование крахмал суспензии на центробеж ситах проводят в две ступени, после чего крахм суспензию подают на пеногашение, а затем на гидроциклоны для удаления песка. Полученную суспензию подают в гидроциклоны для промывки крахмала, кот проводят в три ступени. Далее крахмал обезвоживают на вакуум-фильтрах и высушивают для удаления влаги в сушилках горячим воздухом t 130-180о Газ.сушилки приt 55-65oСохлаждают и фасуют. **Крахмальная патока** – продукт не полного гидролиза крахмала, разбавляемый кислотными или амилолитческими ферментами. Представляет собой безцветную или желтоватую жидкость со сладким вкусом. В зависимости от степени гидролиза патока содержит разное кол-во глюкозы, мальтозы, декстринов. Виды патоки: карамельная (редуц-х вещ-в 34-44%); карамельная низкосахарная (редуц-х вещ-в 30-34%); глюкозная высокосахарная (44-50%), мальтозная (не менее 60% мальтозы). Сырьё: картофель, кукуруза. **Технолгич. схема**: 1.Приготовление суспензии крахмала; 2.Гидролиз крахмала; 3.Нейтрализация кислоты или инактивация фермента; 4.Очистка жидких сиропов; 5.Уваривание жидких сиропов; 6.Очистка густых сиропов; 7.уваривание густых сиропов до патоки; 8.Охлаждение патоки; 9.Упаковка. Есть **3 способа гидролиза**: кислотный (НСl, Н2SO4 (разб) ); кислотно-ферментативный (НCl+ фермент); ферментативный (-амилаза). В процессе гидролиза крахмал клейстеризуют, ожижают, затем осахаривают, степень осахаривания может быть разной в зав-ти от вида получаемого пр-та. В процессе гидролиза обр-ся пр-ты с разл молек массой: декстрины, глюкоза, мальтоза. К-ный гидролиз в конвертерах период/непрерыв действия, а фермент-ый осахариватель(ферментер). **Нейтрализацию** ведут кальцинированной содой Na2CO3 или при t=80С 15 мин. Цель – прекращение гидролиза. Очистка жидких сиропов 1.Подготовка сиропа к фильтрованию, т.е. удаление жирбелковых примесей; 2.фильтрование сиропов (удаление механич. примесей); 3.обесцвечивание фильтрованных сиропов адсорбентами (актив. уголь). Упаривание жидких сиропов до густых – удаление излишка влаги. СВ от 35-40% до 35-37%. Очистка густых сиропов. Затемнение густых сиропов при уваривании удаляется актив. углем. Уваривание густых сиропов до патоки. Ведут в вакуум-аппаратах до сод-я сух. вещ-в 78-80%. Для получения патоки сироп уваривают при t не выше 60С 50-55 мин. Охлаждение. Быстро до t=40-45С в змеевиковых холодильниках и затем фасуют.

73.Технологическая схема хлебопекарного производства. Характеристика основного и дополнительного сырья, используемого в хлебопечении.

Основное сырьё: мука пшеничная (высший, 1- ый, 2 - й сорта, обойная), мука ржаная (обдирная, сеяная), вода, дрожжи, соль, сахар, жиры. Дополнительное сырьё: мука кукурузная, ячменная; обогатители (повышают пищевую ценность и вкусовые качества хлеба): пахта, сыворотка, обезжиренное молоко, мёд, соевая мука; улучшители (улучшают структурно-механические свойства теста и хлеба): ПАВ окислительного действия KIO3, восстановительного действия цистеин; ферментные препараты протеолитические и амилолитические; органические кислоты (молочная, лимонная).

Дрожжи придают пористую структуру в результате выделения СО2 и специфический вкус и аромат. Вносят 0,5 – 2,5% от массы муки. Сахар и соль вносят в растворённом виде, сахар - 0 – 20%; соль – 1,3 – 2,5% от массы муки. Жиры повышают пищевую ценность и вкусовые качества. Жидкие жиры фильтруют, твёрдые растапливают, дозируют в натуральном виде или в виде водно-жировой эмульсии.

Изготовление хлебобулочных изделий состоит из: замес теста и др полуфабрикотов, брожения полуфабрикатов, деления теста на куски опред массы, формирования и расстойки тестовых заготовок, выпечки, охлаждения и хранения хлебных изделий. 1. Приготовление теста: При безопарном способе все ингридиенты и вода, предусмотренные рецептурой, вносятся одновременно. Время брожения зависит от качества и количества вносимых дрожжей (1,3 – 2,5%) и составляет 2 – 4 часа. Опарный способ: вначале готовят опару 3 – 4,5 часа, затем тесто – 1 – 1,5 часа. Для опары расходуют ½ общего кол-ва муки, 2/3 воды и все дрожжи. Соль в опару не вводят. Расход дрожжей в 2 раза меньше по сравнению с безопарным. Различают 2 варианта приготовления теста по опарному способу: на густой опаре – 65 – 70% муки и на жидкой опаре – 30% муки. При опарном способе качество хлеба выше. Хорошая пористость, корка лучше окрашена из-за большого содержания декстринов и сахаров и образования меланоиддинов.

Тесто из ржаной муки готовится на заквасках. Они могут быть густые (головки) или жидкие (квасы). Закваска состоит из дрожжей и молочно-кислых бактерий. На одну клетку дрожжей в густых заквасках приходится 50 – 60 бактерий, 30 – в жидких заквасках. Для её приготовления берут муку, воду и часть спелой закваски предыдущего приготовления.1) Цель замеса – получение однородного теста во всём объёме. Микробиологические процессы не успели развиться и поэтому существенной роли не играют. Свойства теста определяются особенностями его белковой части. Они обуславливают упругость, пластичность и вязкость пшеничного и в определённой степени ржаного теста. Пшеничные белки образуют клейковину, а ржаного – нет. Температура теста при замесе повышается за счёт теплоты гидратации частичек муки и перехода части механической энергии в тепловую. Это активизирует действие гидролитических ферментов теста, что ведёт к его разжижению.2)Брожение начинается с момента замеса. Цель – накопление ароматообразующих и вкусообразующих в-в и приведение теста в благоприятное для разделки и выпечки состояние. Созревание: спиртовое брожение, развитие кислотообразующих бактерий, накопление органических кислот, физико-химические процессы. Бактерии продуцируют 5 кислот: молочную (45 – 70%), уксусную (20 – 45), янтарную (10%), муравьиную, лимонную. Молочная кислота предотвращает развитие патогенных м/о, а уксусная придаёт резкий кислый привкус. Идёт осмотическое набухание белков. Температура теста к концу брожения повышается на 1 – 2 С. Идёт расходование сахаров и образование мальтозы, в результате гидролиза крахмала. Идёт протеолиз белков. Идёт разрыхление теста СО2 и образование мякиша с развитой тонкостенной пористостью. Обминка теста — кратковременное (обычно 1,5—2,5-минутное) перемешивание теста в период брожения, цель которого — улучшение структурно-механических свойств теста (получение наибольшего объема хлеба с мелкой, тонкостенной и равномерной пористостью мякиша). Пшеничное тесто подвергают одной-двум обминкам. 2. Разделка теста. 1) Деление теста на куски – получение кусков равной массы и объёма. Масса теста больше чем хлеба. Отличающиеся по массе куски будут расстаиваться и выпекаться с разной скоростью. 2) Округление теста – придание тесту формы шара. 3) Предварительная расстойка – снятие внутреннего напряжения, возникшего при делении и округлении. Для этого куски выдерживают 5 – 8 минут в состоянии покоя. Куски теста увеличиваются в объёме. 4) Формование тестовых заготовок – придание изделию формы, свойственной данному сорту хлеба. 5)Окончательная расстойка – восстановление пористой структуры теста. t=35–40 С, влажность–75–80%. Изделие не должно обдуваться воздухом во избежание образования корки. 3. Выпечка – t = 200– 280 С. Тесто постепенно превращается в хлеб из-за образованию пористого мякиша и прочной корки. Выпекают на поду или в формах. Изделия из ржаной муки выпекаются дольше. Корка прогревается до 130С в середине и до 160–180С на поверхности. В ней карамелизируются несброженные сахара, изменяются белковые в-ва. Образование мякиша заканчивается при 100С. Готовность – темп-ра мякиша -96-97С.Упёк хлеба – потеря массы теста при выпечке. Она составляет 6 – 14% и зависит от конструкции печи, массы изделия, способа выпечки. После выпечки хлеб охлаждают и фасуют. Усушка – потеря 2 – 4% массы в результате охлаждения. Минимальный срок хранения изделия после выпечки – 1 час, максимальный – 6 часов.

74.Технологическая схема свеклосахарного производства.

Сахар – пищевой продукт, употребляемый ежедневно в больших количествах в чистом виде или в составе пищевых продуктов. Промышленностью выпускается сахар-песок и сахар-рафинад. Они почти полностью состоят из сахарозы. Она обладает чистым сладким вкусом, легко и полностью усваивается организмом человека. Норма потребления сахарозы – 100 г в день. Это дисахарид, который под действием кислоты или фермента разлагается на глюкозу и фруктозу.

Сырьё – сахарная свекла. Отжатый сок очищают, уваривают и выделяют сахар-сырец. Он имеет светло-кремовый цвет. Содержание сахарозы – 97 – 98%. Сахарная свекла относится к семейству маревых. Это двулетнее засухоустойчивое растение. Для производства сахара используют корнеплод первого года развития. В корнеплоде различают: шейку (14%), корень (18%), хвостик (14%). В производство идёт всё, кроме ботвы. Технологическая схема: 1) Доставка свёклы на завод. 2) Кагаты(трапециевидные кучи свеклы), бурачная(железобетон бункеры с 2,3сут запасом свеклы) 3) Мойка и взвешивание. 4) Получение стружки. 5) Получение диффузионного сока. 6) Очистка сока. 7) Сгущение сока до содержания сухих в-в 60 – 70%. 8) Уваривание сиропа до содержания сухих в-в 92 – 93%. 9) Центрифугирование. 10) Промывка. 11) Сушка. 12) Упаковка и хранение.

1. Доставка, хр-е и мойка. Свёклу хранят в трапецеидальных кучах – кагатах. При приёмке определяют её физическое состояние, спелость и загрязнённость. Принимают свежую здоровую свёклу без механических повреждений с минимальным количеством примесей. Кагаты нужно вентилировать, чтобы не было окисления сахара. Оптимальная температура хранения – 0 – (-2)˚С. Кагаты закрывают соломой и землёй. Далее свёкла идёт в бурачную. Это железобетонные бункеры на дне которых находятся желоба гидравлического транспортёра по которым свёкла подаётся на завод. На заводе сначала идёт частичная отмывка, отделение примесей, хвостиков и битой свёклы. Последняя также перерабатывается. Окончательную очистку ведут в моечных машинах 2. Получение стружки – для полного и более быстрого извлечения сахара. Размеры – 0,5 +1,5 мм 3 – 5 мм.3.Получение диффузионного сока. Стружка идёт в диффузионный аппарат для извлечения сахара экстрагентом (горячая вода). Для извлечения сахара из стружки её нужно нагреть. Сахаростружечная смесь подаётся в нижнюю часть аппарата, а горячая вода с температурой 72 – 75˚С (в верхнюю), в результате обессахаренная стружка удаляется в верхней части аппарата, а диффузионный сок, содержащий 15% сахара, удаляется из нижней части. 4.Очистка сока известковым молоком - дефикация с последующим удалением его избытка CO2 – сатурация. В первую очередь очищают сок от мезги (на мезголовушках). Дефекацию ведут в 2 этапа: 1) преддефекация - добавляют 0,2 – 0,3% Ca(OH)2 от массы свеклы; 2) основная дефекация - добавляют 2,5% Ca(OH)2 от массы свеклы. Цель первой сатурации – нейтрализовать свободные кислоты, осадить несахара на частицах CaCO3.Цель второй сатурации – более полное осветление диффузного сока.. Температура диффузионного сока 82 – 84˚С. В процессе сатурации сок немного остывает и перед фильтрованием его подогревают до 100˚С. Цель 2-ой сатурации – уменьшение содержания извести и солей Ca в соке до минимального предела. Фильтрацию ведут в дисковых или патронных фильтрах. Далее ведут сульфитацию для получения более прозрачного сока и снижения цветности. Она заключается в осветлении сока путём превращения красящих в-в в бесцветные. Для этого используют газ с содержанием SO2 12 – 15%. SO2 + H2O H2SO3 (сернистая кислота). 5.Сгущение сока на выпарных аппаратах. Удаляют 90 – 95% воды. Сок с содержанием сухих в-в 14 – 15% упаривают до содержания сухих в-в 60 – 70%. После этого сок превращается в сироп. 6.Уваривание сиропа в вакуумных аппаратах, где удаляют 15 – 20% воды. Образуется белая патока, меласса. Смесь кристаллов сахара и патоки с содержанием сухих в-в 92 – 93% называется утфелем. После уваривания ведут центрифугирование (отделение кристаллов сахара от мелассы). После его отделения сахар промывают. Цель – удаление остатков мелассы. 8.Сушку ведут паром в количестве 2% к массе утфеля. Влажность снижается до 0,4 – 0,5%. количестве 2% к массе удфеля. Влажность снижается до 0,4 – 0,5%. Далее сахар сушат в сушилках до содержания влаги 0,05 – 0,01%. Состав готового сахара: Влага – 0,14%, сахар – 99,75%, редуцирующие сахара – 0,05%.

75.Технология кондитерских изделий.

Их делят на сахарные (шоколад, конфеты, карамель, мармелад) и мучные (печенья, голеты, крекеры, вафли, пряники).

Карамель. К/и получ. увар-ем сах. сиропа с крахмал. патокой или инвертн. сиропом до карамельн. массы с влаж-ю до 4%. В кач-ве осн. сырья испол-т сахар-песок,крахмал. патоку, фруктово-ягод. заготовки, молоч. прод-ты, жиры, какао-прод-ты, орехов. ядра, пищ. кислоты, красители и т.д.. Технология: готовят карамел. массу увариванием карамельн. сиропа до содерж-я сух.в-в 96-99%. Фрук-во-ягод. нач-ки пол-т увар-ем мякоти с сахаром и патокой. Ликерные – увар-т сахаро-паточн. сироп, охл-т, и доб-т алкоголь или алкогол. напитки. Помадная – (мелкокристаллич. масса, находящ. в сахаро-паточн. сиропе) – пол-т путем сбивания с одновремен. охл-ем сиропа, к-й сод-т не более 30% патоки к массе сахара. Шоколадно- ореховая – смеш-т растерт. орехов. ядра, како-тертое, кокосов. или какао-масло и сах. пудру. Масляно-сахарн.(прохлодит) – смеш-т сах. пудру с кокосов. маслом и кристаллич. глюкозой. Перед формованием карамел. массу охл-т с одновремен. окраш-ем, ароматизацией, подкислением. Она попадает в карамелеобкаточн. машину, ей придают форму. Для карамели с начинкой устан-ся начинко-наполнитель. Пол-т карамел. жгут, кот-й калиб-т и режут ножами. Карамель завертывают и фасуют.

Шоколад. Из сахара и какао-продуктов(какао-масло, какао-тертое). Выр-т шоколад:обыкн.(с доб-ми и без), десертн.(с доб-ми и без), порист., с нач-ми, диабетич, с доб-ми вит-в. Технология: обр-ка какао-бобов (сос-т из оболоски-какао-велла) и ядра) – очищают, сортируют, обжаривают, дробят на какао-крупку. Крупку измельч-т (не более 75 мм), получая какао-тертое. Его нагр-т и пресс-т, выдел-ся какао-масло(испол-т для пол-я какао-порошка). Приготовление шоколад. массы – взвеш-т и перемеш-т компоненты(какао-тертое,кака-масло,сах.пудра), измел-т, разводят какао-маслом, гомогениз-т шоколад.глазурь. Масса идет на формование, упаковку и марк-ку. Для хар-ки шоколада исп-т коэф. сладости – отн-е вводим. сахара к какао-тертому: оч. слад.(к≥2), слад.(к=1,6-2), полуслад.(1,4-1,6), полугорьк.(1-1,2), горьк.(менее1). Порист. шок-д – разл-ся в формы на ¾ объема, помещ-ся в вакуум-ап-ты и охл-ся в теч-е 4-х часов. Бел. шок-д – гот-т из какао-масла, сах.пудры, сух.молока, ванилина, без доб-я какао-тертого). Конфеты – к/и, получ. из одн. или неск. конфетн. масс, имеющ. мягк. консист-ю. Быв-т глазиров., неглазиров., шоколад. Технология: пригот-е конф. масс, форм-е корпусов, охл-е, глазир-е, упаков-е. Пролинов и марцепан. масса: пролин. – пол-т из обжар. ядер орехов и маслосодерж. семян. Марцепан. – из сыр. или подсуш. ядер орехов. Ядра очищ-т, обж-т, растер-т, смеш-т с сах-м и др. комп-ми, изм-т массу, разводят(жир, какао-масло), отминка. Сбивные массы: пол-т сбив-ем пенообраз-й с агаросахаропаточн. сиропом с доб-ем вкус и аром. в-в. Разл-т: легкие сбив. массы(суфле, птич. молоко), тяжел.(нуга).

Мучные: печенье (сах.,затяжн.,сдобн.)– мало влаги, много жира и сахара. Тех-я:подг-ка сырья, замес теста, форм-е, выпечка, охл-е, упак-е.Технология получения галет и крекеров отл-ся от ост-х тем, что тесто гот-т дрожжевое,т.е. без испол-я хим.разрыхлителей. В них низкое сод-е жира и сахара.Тех-я:замес опары, выстойка,замес на опаре теста, форм-е выпечка,охл-е, упак-е.

Пряники – сырцовые и заварные. Тех-я: подготока сырья, замес теста, формов-е, выпечка, охл-е, отделка, упаков-е. В пр-ве заварн. пряников перед замесом есть стадия приг-я и охл-я заварки.

Вафли – изделия, кот-е пред-т собой высокопорист.листы с начинкой или без, выпуск-ся разнообораз.формы, могут быть полн-ю или част-но покрыты шокол.глазурью. Тех-я: замес теста, выпечка вафел. листов, охл-е, приг-е нач-ки, пол-е песлоен. начинкой пластов, охл-е, резка пластов, заверт-е и упаковывают.

76.Технология консервирования плодов и овощей.

Консервирование пр-в основано на подавлении протекающих в них биол процессов. Есть 4 принципа: биоз(сохранение пр-та в живом виде, есть полный-эубиоз напр хранение рыбы и частич гемибиоз напр хр-е клубней, плодов), анабиоз-приведение пр-та в состояние в к-м резко замедл-ся биол процессы(есть термо/ксеро/осмо/ацидо – анабиоз), ценоанабиоз –введение в пр-т чистой культуры нужных микробов. Абиоз-отсутстивие живых начавл в пр-те. Есть плодово-ягод натур консервы, компоты, пюре, протертые с сахаром плоды и ягоды, маринады, овощные натур консервы, закусочные и тд.

Технологич. оперции подразд. на 3 этапа: подготовит., основн., завершающий.

Подготов. этап включ: мойку, сортировку по качеству, калибровку, удаление несъед. и малосъедоб. частей. Этот эт. наибол. трудоемкий. Назначение мойки - удаление поверх-го загряз-я землей, ядохимикатами, из-за чего снижается обсеменненостъ м/о и облегчает сортировку по качеству (дефект – бомбаж). Эф-ть мойки повыш. если ее сочетать с обработкой ультразвуком, моющими агентами и колебаниями. Сортировка по качеству (отбраковка, инспекция) произ. на сортиров. транспортерах для отбраковки дефект., поражен. болезнями и вредителями экземпляров. Сортир. сочетают с удалением несъедоб. частей - плодоножек, веточек, листьев. Колибровка- получение однородн. по размеру сырья,ст. зрелости, т.к. если разн. размеры то и кач-во при техн. обр-ке будет разное. Очистка сырья:механич.,телловаягхимичесхая. При механич.- машины с терочн. поверхностью исп. для удаления косточек. При теплов. - очистка корнеплодов осущ. паром; при химичес. - обраб-т нагрет. р-ом щелочи, С=2-10%,t=80-l00о С, 1-10 мин.Затем остатки щелочи промывают водой.

Основ.этап.:бланширование,разваривание,обжаривание,пассирование овощей, эксгаустирование, укупаривание, стер-я или пастер-я. Бланшир-е - кратковр. обработка сырья водой, паром или водн. рас-ми солей, сахара, орг. к-т. Цель - прекращ-е биохим.проц. в продукте, уничтожение м/о, повышен. проницаемости покровной ткани, изменение массы, консис-ции, удаление воздуха.Темп-ра воды для бланш-я не меньше 70-75С. Обычно бланш-е проводят быстро для сохранения цвета и вкуса прод-а. Для закус. и обеден. консервов произ-т обжаривание и пассирование, что повыш. их калорийность и прид. опр.вкус и запах. Конц-е – для жид. и пюреобраз. прод-в (вымораж-е и вып-е). Эксгаустирование - удаление воздуха из заполненных банок перед укупоркой. Это предотвр. окислител. процессы, развитие аэробн. м/о.Наличие воздуха в банках повыш. давление в них при стерилиз-и. Укупоривание - необ-мо для полной гермитизации банок, предотв. попадание внутрь м/о. Тепловая обраб-ка:стерил-я, пастер-я, асептическое консервирование. Стерилиз-я при t выше 100С и повыш р. Пастериз-я при t ниже 100С и атм.Р. Ассептическое консер-е - раздельная кратковр. стерил-я прод-а и тары с послед. фасованием стврильн. охлажд. продукта в ассептич. усл-х. При этом прод-т мгновенно и нагревается и охлаждается

77.Физико-химические методы очистки сточных вод.

Механические методы очистки промышленных сточных вод применяют для выделения нерастворимых минеральных и органических примесей — взвешенных частиц размером более 5— 10 мкм.

Сооружения для механической очистки сточных вод:

решётки и сита;песколовки;первичные отстойники;фильтры;

Методы:Процеживание;Отстаивание;Фильтрование.

Процеживание является первичной ступенью в обработке сточных вод. Путём пропускания сточных вод через специальные стальные решётки из них извлекаются крупные нерастворимые примеси и более мелкие волокнистые фракции. Затем эти решётки подлежат очистке от осадка, а очищенные стоки идут на следующую ступень очистки.

Отстаивание заключается в удалении из отработанных стоков взвешенных частиц. Под действием сил гравитации эти частицы оседают на дно отстойника, выталкивающие силы затем поднимают их на поверхность. По данному принципу работают песколовки, отстойники, осветлители , нефтеуловители. В песколовках из сточных вод выделяются тяжёлые минеральные примеси. Песок, мелкие камни и другие вещества, выпав в осадок на дне ёмкости, удаляются путём сброса осадка. Время фильтрации составляет порядка 1-2 минуты. В отстойниках время пребывания воды - 1,5-2 часа. В зависимости от движения воды эти установки очистки сточных вод бывают вертикального, горизонтального, радиального и комбинированного типа. В процессе выделяются вещества более мелкой фракции – менее 0,25 мм. В основе осветлителей лежит и технология отстаивания, и технология прохождения через слой взвешенных частиц.

Фильтрование состоит в удалении взвешенных веществ из сточных вод в результате пропускания их через пористый материал или специальную сетку с очень маленькими отверстиями. В качестве фильтровальных материалов используют гравий, кварцевый песок, антрацит и другие породы. В процессе фильтрации очищаются стоки с большим содержанием тонкодисперсных твёрдых примесей.

Центрифугирование подразумевает под собой очистку сточных вод в специальном оборудовании – гидроциклонах. Это установки очистки сточных вод безнапорного и напорного действия, где происходит сепарация твёрдых частиц в потоке вращающейся жидкости. Такая станция очистки сточных вод отличается высокой производительностью, компактностью, небольшими затратами на строительство, возможностью автоматизации процессов.

Физико-химические методы очистки сточных вод включают: коагуляция, сорбция, флотация, экстракция, ионный обмен, диализ. Физико-химические методы очистки сточных вод **обладают большими возможностями:** глубокая очистка; удаляются неокисляемые токсичные загрязнения; минимальные габариты очистных сооружений; минимальная чувствительность к переменам нагрузок; допустимо полностью автоматизировать процесс очистки; не надо контролировать работу живых организмов. Для эффективного выбора метода очистки руководствуются техническими и санитарными требованиями, количеством примесей в сточной воде и ее объемом. **Коагуляция** – слипание частиц системы при их столкновении в процессе теплового движения. При перемешивании образуются агрегаты вторичных частиц, состоящих из первичных (более мелких). Коллоиднные частицы адсорбируют на своей поверхности ионы одного знака и образуют адсорбционный слой. Наличие частиц одного знака вызывает их отталкивание, одновременно между частицами действуют силы молекулярного притяжения, которые проявляются на малых расстояниях. При введении электролитов, заряд которых противоположен заряду коллоидных частиц, понижается электрический заряд частиц, становится возможным их слипание. Хлопья образуются сначала за счёт части взвешенных частиц и коагулянтов, а за тем на них сорбируются вещества сточных вод. Применяются минеральные коагулянты: соли алюминия, магния, известь,известковый шлам, хлорид железа. **Сорбция** – процесс поглощения вещества твёрдым телом или жидкостью. Поглощающее тело – сорбент; поглощаемое – сорбат. Если тело поглощает вещества всем своим объёмом, то оно называется абсорбентом (сам процесс – абсорбция); если поверхностью – адсорбентом (адсорбция). Если образуются химические связи, то процесс называется хемосорбцией. В качестве сорбентов используют различные пористые вещества (искусственные и природные)- уголь, торф, силикагель. Этот процесс обратим. **Флотация** – процесс молекулярного прилипания флот-го материлала к поверхности раздела 2 фаз (газа и жидкости), обусловленный избытком свободной энергии поверхностных пограничных слоёв. Процесс очистки промышленных сточных вод от ПАВ, нефти, масла, волокнистых материалов заключается в образовании компонентов частица-пузырёк их всплытия вверх и удаления с поверхности, образующегося пенного слоя. Прилипание частицы наблюдается, если только частица не смачивается или плохо смачивается жидкостью. **Экстракция.** Загрязняющие примеси распределяются в смеси двух жидкостей, которые не растворяются друг в друге. Используют для удаления со сточных вод органики, которую впоследствии перерабатывают: жирные кислоты, фенолы. Таким образом, подбираются такие жидкости, которые способны растворить ценные вещества из сточной воды, но не растворяются с самой очищаемой водой. Экстрагируемое вещество отделяется и подвергается переработки, а экстрагент опять используется в технологии очистки. Экстрагент должен соответствовать определенным требованиям: не должна образовываться эмульсия; несложная регенерация; нетоксичен. **Ионный обмен** – это обмен между ионами, находящихся в растворе и ионами присутствующими на поверхности твёрдой фазы – ионита. Метод позволяет извлекать ценные примеси, ПАВ и радиоактивные вещества. Иониты: алюмосиликаты- прир., ионообменные смолы – синтетич. **Диализ.** Обычный диализ имеет форму мешка из полупроницаемого материала, который заполнен диализируемой жидкостью. Этот мешок опускают в очищаемую воду. Главный недостаток диализа – долгий период очистки. Для ускорения процесса прибегают к увеличению активной площади и повышают температуру. Диализ объединяет в себе осмос и диффузию. Используется для очистки коллоидных жидкостей от низкомолекулярных неэлектролитов и электролитов.

78.Аэробная биологическая очистка сточных вод.

**Аэробный метод** основан на использовании аэробных групп организмов для жизнедеятельности которых необходим постоянный приток О2 и температура 20-400 С. Микроорганизмы культивируются в активном иле или биопленке.Активный ил состоит из живых организмов и твердого субстрата. Живые организмы представлены скоплениями бактерий, простейшими червями, плесневыми грибами, дрожжами, редко – личинками насекомых, рачков, а также водорослями. Биопленка растет на наполнителях биофильтра, она имеет вид слизистых обрастаний толщиной 1-3 мм и более. Процессы аэробной переработки сточных вод идут в сооружениях называемых **аэротенками.** В случае аэробных технологий высокая интенсивность оч-ки достиг-ся за счет непрерывной, интенсивной аэрации воды. Не все сточные воды имеет смысл подвергать биологической очистке. Если в сточных водах отсутствуют органические в-ва или их слишком мало, то биологической очистки не требуется. Микрофлора акт.ила играет роль санитаров. Чтобы сохранить клетки активного ила на городских сооружениях на каждый аэротенк устанавливают по 2 регенератора.

Механизм биологичес**кого окисления:**

**орг.в-ва+О2+N+Р =** биомасса м/о+СО2+биол.неокисляем.в-ва (1)

**м/о+ О2=** СО2+ N+Р+биол.неокисл.в-ва (2)

Первая реакция описывает окисление исходных органических в-в и образование новой биомассы при этом. Биол.неокисл.в-ва пред-ют собой расвор-ые неорг.ионы, к-ые не были удалены на предварит. этапах оч-ки. Реакция 2 описывает процесс окисления избыточной б/м м/о, отмерших клеток м/о с восстановлением исх.биогенных эл-тов. 2. **Эффект аэробной биологической очистки зависит от многих факторов:** 1) оптимальная температура для аэробных процессов 20 – 30˚С. 2) рН = 5,9. часто не хватает N, P, их постоянно добавляют искусственно в виде фосфата, мочевины, ортофосфорной кислоты. 4) Должно быть присутствие кислорода более 2 мг/л 5) Токсические в-ва – это органические и неорганические в-ва; **Технологическая схема процесса:** решётка (удаление крупных загрязнений), затем песколовка (для удаления осаждением твёрдых частиц, мусора, почвы), затем преаэратор (сточная жидкость перемешивается, насыщается кислородом, в результате активный ил начинает перерабатывать загрязнения), затем первичный отстойник (осаждение крупных частиц, которые потоком воды вынеслись из песколовки). Затем аэротенк (насыщение воздухом активного ила), затем вторичный отстойник (где ил вторично отстаивается). Затем хлоратор (для дезинфекции), затем водоём. Из вторичного отстойника ил возвращают в аэротенк, это необходимо для поддержания концентрации ила. **Аэротенк**— чаще всего [резервуар](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A0%D0%B5%D0%B7%D0%B5%D1%80%D0%B2%D1%83%D0%B0%D1%80" \o "Резервуар) прямоугольного [сечения](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A1%D0%B5%D1%87%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D0%B5" \o "Сечение), по которому протекает [сточная вода](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A1%D1%82%D0%BE%D1%87%D0%BD%D1%8B%D0%B5_%D0%B2%D0%BE%D0%B4%D1%8B" \o "Сточные воды), смешанная с [активным илом](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%BA%D1%82%D0%B8%D0%B2%D0%BD%D1%8B%D0%B9_%D0%B8%D0%BB" \o "Активный ил), где происходит биохимическая [очистка сточной воды](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9E%D1%87%D0%B8%D1%81%D1%82%D0%BA%D0%B0_%D1%81%D1%82%D0%BE%D1%87%D0%BD%D1%8B%D1%85_%D0%B2%D0%BE%D0%B4" \o "Очистка сточных вод).

79.Биологическая анаэробная очистка сточных вод.

**Биологическая анаэробная очистка сточных вод.**

Недостатком аэробных технологий яв-ся высокие энергозатраты на аэрацию и проблемы связанные с обработкой и утилизацией избыточного ила.Исключить указанные нед-ки может анаэробная обр-ка методом метанового брожения, при этом обр-ся ценный энергоноситель – метан. Метаногенез или СН4-брожение- проц превращ орг. в-в в биогаз (смесь СН4 и СО2). М/о исп-ют углерод (С) орг в-в как донора е- окисл его до СО2, при этом обр – метан. Это многостад проц, в к-м С-С- связи постеп расщепл под действ м/о. Вкл 4 стадии: **1.гидролиз** (расщепл слож биопо-лимеров – белки, угл, жиры – на более простые мономеры. Обр-ся простые прод, к-е утил-ют сами гидролитики и др бакт на послед стадиях. М/о: Clast. Bacteroides, Lactobacilus. Основ прод гидролиза: ж/к, Н2, СО2.). **2.Кислотогенная** (или ферментация, расщ мономеров до еще более прост в-в, низших к-т, спиртов, обр-ся Н2СО3, Н2 М/о – слож смесь многих видов бакт – Clast, bifidobact,, киш пал,Str. Время генерации неск часов. Идет резкое сниж С, сниж рН, увелич легких ж/к: мурав, укс.) **3.Ацетогенная** (обр-ся непосредст предшеств СН4 – ацетат, Н2, Н2СО3. Разложение восстан-х орг соед, прод кисл-ной стад. Осущ облигатные Н+ -восстан-щие и обли-гатно-синтрофные бакт). **4.Метаногенная** (ведет к конеч прод расщепл слож орг в-в к СН4. М/о–метаногены–облигатные анаэробы. Треб-ся анаэробиоз и нейтр или слабощел ср. 8 субстратов: СО2+Н2; формиат; ацетат;метанол; моно-, ди-, триметиламин; закись углерода. В среднем 80% орг.в-в в стоках разлагаясь превр-ся в биогаз.

**Факторы анаэробной очистки:** 1. Реакц-ная способность; 2.Фазовый и хим состав;3. Размер частиц загруж-го субстрата;4.Время удержания жид-ти в реакторе;5. Конц м/о в реакт; 6. Эф-ть массообм реакц. 7. Скорость загрузки реактора; 8. t-ый режим (3 режима: психрофильный – 20 С, мезоф – 20-45, термоф); 9. Рh 7-8. Идет саморегулиров-ие. При рН=5 – работоспособность системымы резко нарушается); 10. Наличие пит и токс в-в.

80.Реакторы для биологической очистки сточных вод.

**Все реакторы для анаэробной оч-ки делят на 2 поколения:** реакторы со взвешенно-седиментируещей биомассой(илом), реакторы с прикрепленной биомассой.Выбор реактора зав-т от состава СВ и условий эксплуатации. К реакторам 1 поколения отн-ся: анаэробные лагуны, контактные реакторы с восходящим потоком сточных вод через слой анаэробного ила и перегородчатые реакторы. Ко 2 гр. относят биофильтры с нисходящим потоком сточных вод и неподвижной закрепленной биопленкой и реакторы с расширенным и взвешанным слоем частиц носителя и реакторы с восходящим потоком.. **Метантенк** - цилиндрический резервуар с коническим днищем и герметическим перекрытием, в верхней части имеется колпак для сбора газа, откуда газ отводится для дальнейшего использования. В метантенк подаётся смесь сырого (свежего) осадка из первичных отстойников и избыточный активный ил из вторичных отстойников после аэротенков. В метантенках идет подогрев сбраживаемой массы(«острым» паром) и её перемешивание. Различают мезофильное (при 30—35 °C) и термофильное (при температуре 50—55 °C) сбраживание. При термофильном сбраживании процесс распада проходит быстрее, но сброженный осадок хуже отдаёт воду. Смесь газов, выделяющихся при сбраживании, состоит преимущественно из метана (до 70 %) и углекислого газа (до 30 %). Метан (сжигаемый в котельной) используется для получения пара, которым подогревают осадок.

81.Теплообменные процессы. Основные законы теплопроводности. Уравнение основного закона теплоотдачи.

Перенос энергии в форме теплоты происходит между телами с различной температурой и называется [теплообменом](https://studopedia.ru/19_23600_konvektivniy-teploobmen.html). **Движущей силой** любого процесса теплообмена является разность температур более нагретого и менее нагретого тел. Теплообмен – это самопроизвольный процесс переноса теплоты. Аппараты, в которых осуществляются тепловые процессы, называют *теплообменниками*.

**Теплопередача** – это перенос теплоты от более нагретой среды к менее нагретой через разделяющую их стенку. Оба вещества, участвующие в теплопередаче, называются теплоносителями (более нагретый – горячим, менее нагретый – холодным).

Различают три элементарных способа переноса теплоты: ***теплопроводность*, *[конвекцию](https://studopedia.ru/2_85349_konvektsiya.html)*****и *тепловое излучение*.**

*Теплопроводность* представляет собой процесс молекулярного переноса теплоты в сплошной среде, обусловленный наличием градиента температуры. Теплопроводность в чистом виде, как правило, встречается в твердых телах. Так, в металлах перенос теплоты теплопроводностью связан с перемещением свободных [электронов](https://studopedia.ru/11_17250_uloviteli-nefteproduktov.html) и колебаниями атомов кристаллической решетки.

*Конвекция* происходит только в газах и жидкостях и состоит в том, что перенос теплоты осуществляется перемещающимися в пространстве макроскопическими объемами среды.

*Тепловое излучение* – это процесс переноса теплоты в виде электромагнитных волн с двойным взаимным превращением – [тепловой энергии](https://studopedia.ru/7_1194_solntse-kak-istochnik-teplovoy-energii.html) в лучистую и обратно.

**ОСНОВНОЕ УРАВНЕНИЕ ТЕПЛОПЕРЕДАЧИ**

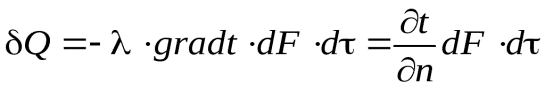
При расчете теплообменных аппаратов используется кинетическое уравнение, выражающее связь между тепловым потоком *Q* и площадью поверхности *F* теплопередачи.

image002 , (1)

где *K* – коэффициент теплопередачи, определяющий скорость переноса теплоты( Вт/м^2\*К); image004 – средняя движущая сила или средняя разность температур между теплоносителями (средний температурный напор) по всей поверхности теплопередачи; image006 – время.

Ур-е (1) выражает физический смысл коэффициента теплопередачи *K*: коэффициент теплопередачи показывает, какое количество теплоты передается от горячего теплоносителя к холодному за 1 с через 1 м2 стенки при средней разности температур между теплоносителями, равной 1 град.

Согласно гипотезе Фурье, количество теплоты проходящей через элемент изотермической поверхности *img-nhL8ok* за промежуток времени img-3aFPiD, пропорционально температурному градиенту

,

гдеimg-ZmmZhP–коэффициент теплопроводности,*img-FYYtfz* – элементарная площадь поверхности, *м2*; img-dsoeem – время передачи теплоты,

Количество теплоты, проходящее в единицу времени через единицу площади изотермической поверхности , называется *плотностью теплового потока.*

Количества теплоты *img-IiuTW7*, проходящее в единицу времени через изотермическую поверхностьimg-bwlBob, называется *тепловым потоком* (*Дж/с =Вт*):

*3акон Стефана - Больцмана* устанавливает связь между плотностью полусферического интегрального излучения абсолютно черного тела и абсолютной температурой тела. Плотность излучения абсолютно черного тела прямо пропорциональна абсолютной температуре в четвертой степени

image767

где *σ0, c0*– коэффициенты пропорциональности (постоянные излучения);

*σ0*= *5,76·10-8 Вт/( м2·K4)*; *c0*= 5,76 *Вт/(м2·K4).*

Для серых тел закон Стефана-Больцмана записывается в виде

image769 ,

где *с*– коэффициент излучения серого тела.

Закон Ньютона

Практические расчеты теплоотдачи основываются на *законе Ньютона-Рихмана,* полученном на основании обобщения опытных данных.Согласно этому закону полный тепловой поток Q, Вт, отдаваемый в процессе теплоотдачи, пропорционален поверхности теплообмена F и разности температур поверхности тела tc и омывающей ее среды t\* (температурному напору):

44

где а - *коэффициент теплоотдачи,* характеризующий интенсивность процесса теплообмена. Размерность а - Вт/(м2-К), т. е. это - количество теплоты, которое в единицу времени отдается единицей поверхности тела при разности температур поверхности тела и омывающей среды в один градус

82.Классификация теплообменников и аппаратуры, используемой в процессах нагревания и охлаждения в биотехнологии.

Для проведения теплообменных процессов в биотехнологии используют разнообразное оборудование, включая рубашки, внутренние и внешние змеевики, внешние теплообменники, а также реакторы непрерывного действия, такие как установки непрерывной стерилизации питательных сред. Основанием для выбора конкретного оборудования служат такие параметры, как время проведения теплообменного процесса, площадь поверхности теплообмена и параметры теплоносителя.. Теплоносителем как для охлаждения, так и для нагрева служит вода. Кроме того, в биореакторах зачастую проходит подготовка питательных сред и их стерилизация. В этом случае применяют нагрев до более высоких температур с помощью пара. В зависимости от интенсивности теплообменных процессов в биотехнологии используют следующее теплообменное оборудование:

– внешний змеевик;

– рубашка;

– внутренний змеевик;

– внешний теплообменник;

– установка непрерывной стерилизации.

***Внешний змеевик*** используют при низкоинтенсивных теплообменных процессах, так как он представляет собой трубу, обвитую вокруг корпуса реактора. Расчет подобных теплообменников состоит из нескольких этапов. Сначала определяют параметры среды и теплоносителя, то есть изменение температуры среды в процессе нагрева или охлаждения и среднюю разницу температур между средой и теплоносителем,зная массу и теплоемкость среды, определяют количество тепла, которое нужно подвести или отвести. И вычисляют необходимую площадь теплообмена.

***Рубашка*** представляет собой дополнительный внешний корпус реактора, который герметично прикрепляется к основному. В пространство между этими корпусами подается теплоноситель. Таким образом, поверхность теплообмена примерно равна внешней поверхности реактора, что делает рубашку более эффективным устройством, чем внешний змеевик. Однако с увеличением объема реактора ее эффективность резко снижается из-за уменьшения удельной повехности биореактора. Поэтому рубашки обычно используются для биореакторов малого и среднего объемов (0,1–10 м3 ).

***Внутренний змеевик*** используется для проведения интенсивных теплообменных процессов благодаря тому, что он позволяет легко увеличивать поверхность теплообмена независимо от объема биореактора. Кроме того, исключаются потери тепла в окружающую среду. Конструктивно он представляет собой трубу, свернутую в спираль и помещенную внутри корпуса биореактора. Нахождение внутри аппарата является также основным недостатком подобных устройств, так как препятствует работе мешалок, проведению мойки и стерилизации, а также техническому обслуживанию биореактора. Расчет внутренних змеевиков аналогичен расчету внешних.

***Внешние теплообменные устройства*** применяются в том случае, когда производительности теплообменников, установленных на самом биореаторе, не хватает для обеспечения требуемого времени проведения процесса. К таким случаям относятся стерилизация питательных сред, упаривание культуральных жидкостей, быстрое охлаждение сред, например при варке сусла. Здесь используются эффективные теплообменники, такие как труба в трубе, кожухотрубчатые или пластинчатые. Методики их расчета подробно рассматривались в курсе «Процессы и аппараты химической технологии».

83.Массообменные процессы. Основные законы массоотдачи.

*Массообменными*называют процессы, характеризуемые переходом вещества из одной фазы в другую. Обычно под массопередачей понимают переход компонента смеси из области высокой концентрации в область более низкой концентрацииПеренос вещества внутри одной фазы к поверхности раздела или от нее к другой фазе называют *массоотдачей.*

Общепринятая классификация подразделяет массообменные процессы на следующие виды.

1. *Сушка* — удаление влаги из твердых материалов путем ее  
испарения.

2. *Кристаллизация* — выделение твердой фазы в виде кристаллов из растворов или расплавов. Процесс характеризуется переходом вещества из жидкой фазы в твердую, вследствие изменения  
его растворимости. В промышленности строительных материалов  
процессы схватывания и твердения вяжущих связаны в первую очередь с процессами кристаллизации.

3. *Адсорбция*— избирательное поглощение газов, паров или  
растворов поверхностью твердого тела. Ионный обмен, находящий  
в последнее время значительное распространение в керамической  
промышленности, является разновидностью адсорбции. Он основан  
на способности некоторых твердых веществ (ионитов) обменивать  
свои подвижные ионы на ионы растворов электролитов.

4. *Экстрагирование* — извлечение из твердого или жидкого вещества одного или нескольких компонентов с помощью раствори  
теля. При этом извлекаемые компоненты переходят из твердой или  
жидкой фазы в растворитель.

5. *Абсорбция* — поглощение газов или паров жидкими поглотителями. Процесс характеризуется переходом вещества из газовой  
фазы в жидкую.

6. *Ректификация* — разделение гомогенных жидких смесей путем многократного частичного испарения жидкости с последующей  
конденсацией образующихся паров. Однократное частичное испарение с последующей конденсацией носит название перегонки.

Основное уравнение массопередачи имеет вид: dM= KdFd ,

где M – количество вещества, переносимого из фазы в фазу; K – коэффициент массопередачи; F – площадь поверхности взаимодействия фаз; – время; – движущая сила массопередачи.

Для стационарного процесса для всей поверхности взаимодействия фаз расход вещества, переносимого из фазы в фазу, M определяется: M = KF.

***Молекулярная диффузия***

Скорость переноса вещества молекулярной диффузией описывает первый закон Фика: количество вещества M , перенесённого за счёт молекулярной диффузии за время через поверхность площадью F , пропорционально времени переноса, площади поверхности и градиенту концентраций dc/dn : dM DdFd dc /dn,

где D – коэффициент молекулярной диффузии, м2 /с.

**Основной закон массоотдачи**, был установлен русским ученым Щукаревым при изучении растворения твердых тел. Этот закон формулируется так: количество вещества, перенесенного потоком от поверхности раздела фаз (контакта фаз) в воспринимающую фазу или в обратном направлении, прямо пропорционально разности концентраций у поверхности контакта фаз и в ядре потока воспринимающей фазы, площади поверхности контакта фаз и продолжительности процесса.

Для стационарного процесса уравнения массоотдачи в дифференциальной форме записывается:

image190 ;

image192 ,

где: image194 , image196 - коэффициенты массоотдачи, характеризующие перенос вещества конвективными и диффузионными потоками одновременно; концентрации image186 и image188 предполагаются равными равновесным, т. е. image200 и image202 .

Размерность коэффициента массоотдачи метр/час

Уравнение конвективной диффузии математически описывает процесс массопереноса в одной фазе и для вывода критериев подобия оно должно быть дополнено соответствующими условиями, характеризующими массообмен на границе раздела фаз.

image376**- диффузионный критерий Нуссельта** – *характеризует массообмен на границе фаз и является аналогом теплового критерия Нуссельта*.

image380- **диффузионный критерий Фурье**, который *характеризует нестационарный диффузионный процесс.*

image382- **диффузионный критерий Пекле**, который *характеризует подобие полей концентраций по длине пути.*

Гидродинамическое подобие в массообменных аппаратах характеризуется критерием: ***Re=image384;*** image386,

**PrD**- **диффузионный критерий Прандтля**, характеризует *подобие полей физических величин*.

84.Контрольно-измерительные приборы, используемые в биотехнологических производствах. Их устройство и принцип действия.

***Контроль рН*** Осуществляется стеклянным электродом, при этом измеряется разность потенциалов между хлорсеребряным электродом Ag/AgCl и каломельным электродом Hg2Cl2/Hg сравнения, а первый находится внутри колбы из соответствующего стекла. Потенциал стекла зависит от рН.

Оба электрода вмонтированы  во фторопластовые втулки и прокладки из силиконовой резины. Из насыщенного раствора KCl внутри стеклянной колбы осидов KCl оседает на стенках, увеличивая сопротивление электрода воздействию среды при стерилизации.

Электрод сравнения помещен в асбестовый цилиндр, которые обеспечивают контакт с раствором.

Оба электрода защищены стеклянными цилиндрами с отверстиями для перетекания жидкости.

Электроды выдерживают до 20 стерилизаций паром при 120°С в течение 1 часа. Стерилизовать можно прямо в ферментере или в автоклаве. Непрерывное измерение и регистрацию рН можно осуществлять, помещая вспомогательный электрод в стеклянную трубку с отверстием, закрытым стекловатой либо асбестом.

***Растворенный кислород*** Датчики концентрации растворенного кислорода работают на электрохимическом принципе амперометрически.

Главным элементом является тефлоновая мембрана, которая стерилизуется паром, что позволяет организовать непрерывный контроль.

Изолированный нихромовый стержень контактирует с платиной сквозь прокладку между ней и свинцовой трубкой.

Тефлоновая мембрана плотно прижимается к платиновому катоду. Анодом является алюминиевая трубка, через которую проходит проволока из нихрома, изолированная от алюминиевой трубки эпоксидной смолой. Кольцеобразное пространство между стеклянной и алюминиевой трубками заполнено электролитом, который представляет собой насыщенный KCl в 95%-ном растворе этиленгликоля.

Такой электрод удовлетворительно работает примерно 2 месяца и выдерживает 45 стерилизаций.

***Пеногашение*** Проверено, что пенообразование снижается в присутствии противопенных агентов, особенно, в сочетании с механическим пеногасителем, который располагается на валу мешалки.

Автоматическая схема регулирования пеногашения работает следующим образом. Когда пена соприкасается с гуммированным электродом, срабатывает соленоидный клапан, через который в ферментер поступает стерильный противопенный агент. Для равномерного распределения агента по поверхности среды устанавливается отражатель. Количество противопенного агента контролируется регулятором с выдержкой времени.

***Измерение концентрации СО2 в выходящих газах*** Параметр контролируется по теплопроводимости или с помощью инфракрасного анализатора.

***Температура*** Температура процесса должна непрерывно контролироваться, так как в большинстве случаев м.о. функционируют в узком интервале температур. Для измерения используют ртутные термометры, термопары и металлические термометры сопротивления.

***Давление*** В условиях стерильности хорошо работают обычные диафрагмовые манометры. Сигнал реализуется непосредственно на исполнительном устройстве или преобразуется в электрический для включения или выключения компрессора. Снижение давления сигнализирует о необходимости принять меры к усилению герметичности.

***Скорость подачи газа и жидкости*** Для этого применяется расходомеры переменного сечения - ротаметры и диафрагмы. Положение поплавка по емкостному принципу преобразуется в электрический сигнал и управляет вентилем на трубопроводе.

***Уровень жидкости в ферментере*** Обычные методы здесь неприменимы, из-за сильного пенообразования. Целесообразно использовать весовой принцип, в котором фиксируется масса аппарата. Соответствующий датчик передает сигнал на прибор, градуированный в единицах уровня.

85.Оборудование для культивирования микроорганизмов поверхностным и глубинным способами.

Глубинный способ культивирования в биопромышленности является основным при производстве большинства биопрепаратов. Он осуществляется, как правило, в реакторах (ферментерах) большой емкости.

Типовые ферментеры представляют собой вертикальные ёмкости различной вместимости (малые — от 1 до 10 л, многотоннажные – более 1000 л) с минимальным числом штуцеров и передающих устройств.

Ферментеры снабжены паровой рубашкой, мешалками, барботерами, стерилизующими воздушными фильтрами, отбойниками, обеспечивающими необходимые температурный, газовый режим, гидродинамическую обстановку в биореакторе (т.е. процессы массо- и теплообмена). В биореакторах имеются пробоотборники для отбора проб культуральной жидкости в процессе биосинтеза. Могут быть и другие конструктивные особенности, учитывающие специфику биотехнологического процесса. Работа отдельных узлов контролируется измерительными приборами, фиксирующими как параметры технологического процесса, так и отдельные физико-химические показатели культивирования (температуру стерилизации и культивирования, скорость вращения мешалки, давление, расход воздуха или газов на аэрацию, пенообразование, pH, еН, рО2, рСО2 среды).

Тип биореактора, чистота обработки внутренних стенок аппарата и отдельных его узлов, ёмкость, коэффициент заполнения, поверхность теплоотдачи, способ отвода тепла, тип перемешивающих, аэрирующих устройств, арматура и запорные приспособления, способ пеногашения — это далеко не полный перечень отдельных элементов, которые, в отдельности и во взаимосвязи, влияют на процесс культивирования микроорганизмов и клеток.

**Биореакторы подразделяют на три основные группы.**  
1. реакторы с механическим перемешиванием;  
2. барботажные колонны, через которые для перемешивания содержимого пропускают воздух;  
3. эрлифтные реакторы с внутренней или внешней циркуляцией; перемешивание и циркуляция культуральной среды в них обеспечивается потоком воздуха, за счет которого между верхним и нижним слоями культуральной среды возникает градиент плотности.

В биореакторах, относящихся **ко второй группе,**перемешивание клеток происходит путем аэрирования воздухом. Это **барботажный** тип биореактора, при котором процесс перемешивания суспензии осуществляется поднимающимися пузырьками воздуха. В случае барботажных биореакторов обычно получают хорошие ростовые характеристики для большого числа клеточных культур. Однако сложность поддержания суспензии в гомогенном состоянии при высоких концентрациях биомассы клеток сужает сферу их применения.

Несколько больших значений максимальной концентрации клеточной биомассы можно достичь при применении **эрлифтных** биореакторов, в которых создаются направленные циркуляционные потоки. В эрлифтных биореакторах перемешивание суспензии осуществляется за счет применения специальной конструкции, создающей градиент плотности (как правило, это конструкция с внутренним цилиндром).

**Первая группа биореакторов** представляет собой аппараты с применением механических перемешивающих устройств.

При производстве ферментов и органических кислот до сих пор широко применяется культивирование микроорганизмов на поверхности жидких или сыпучих сред. Примером выращивания клеток на поверхности жидкой среды является получение лимонной кислоты. Среду заливают в кюветы слоем 80-150 мм и засевают спорами продуцента. Кюветы помещают в растильную камеру, где поддерживают необходимую температуру. Мицелий продуцента развивается на поверхности жидкости, используя кислород окружающего воздуха. По окончании культивирования жидкость, содержащую лимонную кислоту, сливают в сборник и передают на стадии выделения целевого продукта.

Культивирование микроорганизмов на сыпучих средах (твердофазная ферментация) при производстве ферментов осуществляют в кюветах, а также в различных механизированных установках.

Аппарат представляет собой вертикальный сосуд цилиндрической формы с коническим днищем, снабженный рубашкой и змеевиками для охлаждения культуры. Внутри аппарат разделен на несколько секций горизонтальными перфорированными пластинами. Субстрат перемешивается с помощью лопастных мешалок, установленных в каждой секции на вертикальном валу. Засеянную питательную среду загружают через верхний люк, а готовую культуру выгружают через нижний люк. Культура подается с верхних секций на нижние путем периодического переворачивания перфорированных пластин на 90 ° вокруг горизонтальной оси. В каждую секцию под перфорированные пластины поступает стерильный воздух.

Перемешивание сыпучего субстрата в данном аппарате позволяет вести процесс культивирования в толстом слое субстрата (300-500 мм, при выращивании в кюветах - 20-30 мм). Это существенно повышает удельную производительность установки. Так, производительность трехсекционного аппарата этой конструкции диаметром 3200 мм 1000 кг готовой культуры в сутки.

86.Установки для приготовления и стерилизации питательных сред в биотехнологических производствах.

Приготавливают пит среды в спец аппаратах разл емкостей со сферич или плоским днищем, закрытые и открытые. Они снабжены рубашкой или змеевиком для подогрева или охлаждения среды. Снабжены мешалкой и барботером для подачи острого пара. В основном применяют аппараты из нержавщей стали или чугунные эммалированные. Готовые пит среды или концентраты пит среды поступают на стерилизацию. Стерилиза́ция — полное освобождение какого-либо предмета от всех видов микроорганизмов, включая бактерии и их споры, грибы, вирионы, а также от прионного белка, находящихся на поверхностях, оборудовании, в пищевых продуктах и лекарствах. Осуществляется термическим, химическим, радиационным, фильтрационным методами. Методы стерилизации. Термическая: паровая и воздушная (сухожаровая) Химическая: газовая или химическими растворами (стерилянтами) Плазменная (плазмой перекиси водорода)Радиационная стерилизация — применяется в промышленном варианте. Метод мембранных фильтров — применяется для получения небольшого количества стерильных растворов, качество которых может резко ухудшиться при действии других методов стерилизации(бактериофаг, селективные питательные среды, антибиотики). Тиндализация. применяют для стерилизации растворов, неустойчивых к действию высокой температуры. Она состоит в неоднократном нагревании до температуры 70—100°С с промежутками в 24 ч

Широко распространен метод стерилизации нагреванием. Можно разделить на 3 этапа:

1 нагревание среды или аппаратуры до t стерил-ции. 2 выдержка при этой t в течение опред времени., обеспеч гибель всех м/о. 3 охлаждение стерил-го объекта до t доступной для засева чистой культуры. Стерил-ю стекл посуды ведут сухим паром t=1600С 60 мин. Аппар-ру и коммуникации стер-ют острым паром t=115-120ос. Посевные боксы стер-ют облучением с помощью бактериальных ламп. **Автокла́в** — аппарат для проведения различных процессов при нагреве и под давлением выше атмосферного. В этих условиях достигается ускорение реакции и увеличение выхода продукта.

Приготавливают пит среды в спец аппаратах разл емкостей со сферич или плоским днищем, закрытые и открытые. Они снабжены рубашкой или змеевиком для подогрева или охлаждения среды. Снабжены мешалкой и барботером для подачи острого пара. В основном применяют аппараты из нержавщей стали или чугунные эммалированные. Готовые пит среды или концентраты пит среды поступают на стерилизацию. Стерилиза́ция — полное освобождение какого-либо предмета от всех видов микроорганизмов, включая бактерии и их споры, грибы, вирионы, а также от прионного белка, находящихся на поверхностях, оборудовании, в пищевых продуктах и лекарствах. Осуществляется термическим, химическим, радиационным, фильтрационным методами. Методы стерилизации. Термическая: паровая и воздушная (сухожаровая) Химическая: газовая или химическими растворами (стерилянтами) Плазменная (плазмой перекиси водорода)Радиационная стерилизация — применяется в промышленном варианте. Метод мембранных фильтров — применяется для получения небольшого количества стерильных растворов, качество которых может резко ухудшиться при действии других методов стерилизации(бактериофаг, селективные питательные среды, антибиотики). Тиндализация. применяют для стерилизации растворов, неустойчивых к действию высокой температуры. Она состоит в неоднократном нагревании до температуры 70—100°С с промежутками в 24 ч

Широко распространен метод стерилизации нагреванием. Можно разделить на 3 этапа:

1 нагревание среды или аппаратуры до t стерил-ции. 2 выдержка при этой t в течение опред времени., обеспеч гибель всех м/о. 3 охлаждение стерил-го объекта до t доступной для засева чистой культуры. Стерил-ю стекл посуды ведут сухим паром t=1600С 60 мин. Аппар-ру и коммуникации стер-ют острым паром t=115-120ос. Посевные боксы стер-ют облучением с помощью бактериальных ламп. **Автокла́в** — аппарат для проведения различных процессов при нагреве и под давлением выше атмосферного. В этих условиях достигается ускорение реакции и увеличение выхода продукта.

87.Оборудование, применяемое для выделения и очистки продуктов биотехнологических производств.

Фильтры (Ф) в многотонаж пр-ве широко примен нитчатые Ф. Это апп-т период дейст, изгот из нержав стали в виде прямоуг или кругл резерв с плоск или дном. На нек расст-и от дна укрепл гориз-ая фил-ая перегор с распред-ой в ней ф/тканью–бязь, фланель, лавсан. В практ есть штуцера для заливки сусп-зии и подачи сжат возд. Жид фаза сусп пройдя ч/з фильт ткань слив-ся в отстойники, осадок снимается однолопаст мешал. В пищ и ферм пром примен фильтр-прессы пер действ. Они сост из одинак черед-ся рам и плит одинак размера. М/д соприк-ся поверхн рам и плит распред ф/ткань или солфетка. Плиты им по краям гладк пов-ть, а в серед рефленную с желобками. Литые рамы им клапаны для подвода сусп, для промыв жид-ти и для стока фильтрата. Осн детали изгот из нержав стали. Проц ф-ции осущ след обр: сусп ч/з отверст стенки рамы поступ во внутрь. Она раздел на осадок и фильтрат, кот стекает по клапанам в плитах в трубопров. При заполн осадком ф-пресса отключ, раздвиг плиты и рамы, осад снимают. В м\биол пром исп-ют барабанные вакуум-ф период действ, имеют высок степень механ-ции. Оборуд предст собой барабан, погруж на половину своей пов-ти в емкость, в кот непрер подается культур-ая жид. Пов-ть барабана перфорированна и обтянута фильт тканью. Бар-н вращ медл и проход зону фильт-я, выщелач-е, промывки осадка, отдувки и регенер ткани. К ф период действ отн ленточные ф, работ под ваккумом, в этом ф резин лента с прорезями и бортами перемещ по замкн пути при пом привода. Фильт-ая ткань в виде бесконеч ленты прижим-ся к резин ленте при пом роликов. Сусп поступ на фильт ткань из лотка, фильт-ся под вак-ом и отвод в сборник.

Центрифуги (Ц) и сепараторы (С) примен для плохо поддающ фильт-ции сусп для отдел взвеш частиц (биомассы) и удаления взвесей. Различ Ц и сверхЦ. Первые для раздел сусп с малой конц тверд фазы и для удал влаги из сыпуч матер. СверхЦ и С для раздел эмульсий и тонкодисп суспензий. Осн элемент **.** вращ-ся полый цилиндр, ротор или барабан, в кот с опред скоростью подается из смесителя сусп. Скорость вращ обычно 7т об/мин. У сверхЦ 13-17т об/мин. В верх части сверхЦ имеются 2 приемника жид-тей, ч/з кот непрер отвод-ся тяж и легк фракции раздел смесей. По способу выгрузки осадка Ц быв период и непрер действ. Период: ручн и гравитац, непрер: пульсир-ие и центробеж. В гравит Ц нижн часть бараб ротора делается конусной и п/л ее остановки осадок под дейст силы тяжести сполз с перфор стенок и удал ч/з люк. С по принц действ не отлич от Ц. Барабан у С по диаметру >, чем у сверхЦ, по высоте < и он снабжон разделит-ми тарелками. Они изгот из нерж стали, на тарелк им выступы. Тарел раздел массу движ в бараб жид-ти на ряд тонк слоев, что повыш степ эф-ти сепар-ции. Эмульс под-ся в С сверху, спуск в нижн часть, поступ в камеру бараб, где наход комплект раздел-ых тарел.

Для выщелач-я примен разл типы экстракторов период, полунепр и непрер действ. По направл движ экстраг-та и экстр-их частиц бывают: противоточн, прямоточн, с замкнут период проц. По виду циркул-ции бывают с однократн прохожд-ем эктраг-та, с рецир-кул-ей и оросительные. По св-вам тв частиц, уч-их в проц экстр-ции на крупнозернистые, мелкозер-нистые и тонкодисперсн и др. По виду корпуса: колоночные, камерные. По виду пусков устр: шнековые, ротацион, ленточн.

Сушка явл обязат операц предшест выпуску гот прод. Удаление влаги придает необ св-ва. Влагу можно удалить из матер механ способ: отстаив, фильтр, центр-е. При выборе метода сушки и типа необх учитывать св-ва матер-ла. Разл неск видов сушки. По способу подвода тепла к высуш матер: конвективный или воздушн – осущ с пом непоср соприкосн высуш матер с сушил агентом. Контактная – путем передачи тепла от теплоносит к матер ч/з раздел стенку. Радиационная сушка – путем передачи тепла инфракрас лучами. Сублимац сушка – из замор матер при глубок ваккуме. Барабанные сушилки – влажн матер загруж в полый цилиндр, устан на лотках под небольш углом и к горизонту. Его привод во вращ эл/двигат. Высуш матер пересып и движ-ся к разгруз люку. Антибиот сушат под вак в стерил усл.

88.Характеристика дрожжей, используемых в пивоварении и спиртовом производстве.

Спиртовые дрожжи Saccharomyces cerevisiae, представляют собой одноклеточные микроорганизмы, относящиеся к классу аскомицетов (сумчатых грибов) и предназначены для сбраживания сахаров, содержащихся в осахаренном сусле, в спирт.

Спиртовые дрожжи обычно размножаются почкованием и очень редко (при большом дефиците питательных веществ) дрожжи размножаются спорообразованием.

Дрожжевые клетки бывают яйцевидной, эллипсоидальной, овальной или вытянутой формы, которая, как и их величина (6— 11 мкм), зависит от вида дрожжей и условий развития. Отношение поверхности клетки к ее объему влияет на скорость массообменных процессов между клеткой и питательной средой и, следовательно, на интенсивность жизнедеятельности дрожжей.

Дрожжевая клетка состоит из оболочки, цитоплазмы и ядра. Наружная часть оболочки дрожжевой клетки образована полисахаридами типа гемицеллюлоз, преимущественно маннаном и небольшим количеством хитина, внутренняя часть — белковыми веществами, фосфолипидами и липоидами. Оболочка регулирует состояние клеточного содержимого и обладает избирательной проницаемостью, чем существенно отличается от обычных полупроницаемых мембран.

Цитоплазма дрожжевой клетки имеет гетерогенную структуру и вязкую консистенцию. Коллоидный характер ее обусловлен белковыми веществами. Кроме них цитоплазма содержит рибозонуклеопротеиды, липоиды, углеводы и значительное количество воды. Цитоплазма молодых клеток внешне гомогенна, при старении клеток в ней появляются вакуоли, равномерная зернистость, жировые и липоидные гранулы. В цитоплазме с ее органоидами (хондриосомами, микросомами, вакуолями) и включениями протекают важнейшие ферментативные процессы.

Митохондрии (хондриосомы) дрожжевой клетки имеют форму зернышек, палочек или нитей. Питательные вещества, проникающие в клетку, адсорбируются и аккумулируются хондриосомами и подвергаются быстрым превращениям вследствие концентрации в этих участках клетки соответствующих ферментов. В митохондриях полностью осуществляются цикл трикарбоновых кислот и важнейшая энергетическая реакция — окислительное фосфорилирование, почему их рассматривают как основную «силовую станцию» клетки. Здесь же происходят реакции активирования аминокислот в процессе синтеза белка, липидов и других соединений.

Микросомы (рибосомы) дрожжевой клетки представляют собой включения в виде субмикроскопических зернышек, состоящих из липоидов, белков и рибоиуклеиновых кислот (РНК), которые обеспечивают синтез белков за счет активированных аминокислот, поступающих из митохондриальной системы.

Ядро дрожжевой клетки — небольшое шаровидное или овальное тело, окруженное цитоплазмой и нерастворимое в ней. В ядерных структурах обособлены в виде включений дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) и ее протеид (ДНКП), содержится большое количество РНК. ДНК способствует передаче наследственной информации, сохранению свойств микроорганизмов.

Обязательный органоид дрожжевой клетки вакуоли — полости, образующиеся в плазме при старении дрожжевых клеток, наполненные клеточным соком и отделенные от цитоплазмы вакуолярной мембраной, т.е. тонопластом - слоем из белков и липидов. Форма вакуолей изменяется вследствие движения и контракции цитоплазмы. Вакуоль в молодых клетках состоит из множества мелких полостей, в старых — из одной очень большой. Клеточный сок представляет собой водный раствор различных солей, углеводов, белков, жиров и ферментов. В вакуолях сосредоточиваются различные соединения, которые должны подвергаться ферментативным превращениям, образуются продукты жизнедеятельности и отбросы.

В молодых дрожжевых клетках жира обычно нет, в зрелых он содержится лишь в немногих клетках в виде очень мелких капелек, в старых — крупных капель.

Saccharomyces carlsbergensis при брожении агглютинируют и оседают на дно бродильного чана, где собираются и образуют к концу брожения более или менее прочный осадок. Поэтому технически они обозначаются как дрожжи низовые, и соответствующее пиво является пивом низового брожения. Брожение, вызванное ими, хорошо протекает и при низких температурах от 6 до 8°С; брожение приостанавливается только при 0С.

89.Культивирование засевных и производственных дрожжей в бродильных производствах.

Для сбраживания зерно-картофельного сусла сначала подготавливают дрожжи. Используют расы верховых дрожжей ХII, II, М и др.

Оптимальная температура для размножения дрожжей 29-30 ºС. Однако дрожжи проявляют максимальную бродильную активность при температуре 17-22 ºС. Поэтому размножение биомассы дрожжей ведут именно при этой температуре. Эта же температура позволяет предотвратить развитие посторонних микроорганизмов.

Сусло, идущее на выращивание дрожжей, подкисляют до рН 3,8-4,0. Дрожжи при значениях рН ниже 4,2 продолжают развиваться, а посторонняя микрофлора, в частности молочнокислые бактерии, нет.

В зависимости от того, чем подкисляют сусло (серной или молочной кислотой), различают соответственно ***дрожжи сернокислые и молочнокислые***. На спиртовых заводах чаще всего готовят сернокислые дрожжи.

Дрожжи размножают из чистой культуры по схеме:

ЧКД → Засевные дрожжи → Производственные дрожжи.

**Разведение засевных дрожжей**из чистой культуры. Чистая культура дрожжей на спиртзаводы поступает в пробирках. Выращивают чистую культуру путем последовательного пересева дрожжей в стерильное сусло в пробирки, затем колбы и бутыль на 5 дм3. После этого содержимое бутыли переливают в дрожжанку с 50 дм3 нестерильного сусла с концентрацией сухих веществ 16-18 %. Накопление биомассы ведут при температуре 30 ºС в течение 24 час до достижения 5-6 % сухих веществ. В результате получают *засевные*дрожжи. Их готовят один раз в начале производственного сезона. В дальнейшем засевные дрожжи отбирают от производственных в количестве 10 % от объема бражки. Очищают от посторонних микроорганизмов путем обработки серной кислотой до рН 2,0 в течение 30 мин.

**Разведение производственных дрожжей**. Производственные дрожжи выращивают из засевных дрожжей. Разводят периодическим или полунепрерывным способом в дрожжанках (герметично закрытых емкостях с мешалкой и змеевиками для подвода пара и воды).

**Периодический способ**включает следующие операции:

- для получения*сернокислых дрожжей*:

1) отбор в дрожжанку из осахаривателя сусла с концентрацией сухих веществ 16-18 %;

2) пастеризация сусла при температуре 70 ºС в течение 20-ти мин;

3) охлаждение до 50 ºС;

4) подкисление серной кислотой до кислотности 0,7-0,8º для зернового сусла и 0,8-0,9º для картофельного сусла;

5) охлаждение до температуры 30 ºС;

6) внесение засевных дрожжей в количестве 10 % от объема сусла;

7) охлаждение до температуры 18-22 ºС;

8) размножение дрожжей в течение примерно 20 час до снижения концентрации сухих веществ на 2/3 от первоначальной величины;

- для получения *молочнокислых дрожжей*:

1) отбор в дрожжанку из осахаривателя сусла с концентрацией сухих веществ 16-18 %;

2) охлаждение сусла до температуры 50-51 ºС;

3) внесение засевной культуры молочнокислых бактерий в количестве 2-3 % от объема сусла

4) молочнокислое брожение до повышения кислотности 2,0-2,2º для картофельного и 1,7-2,0º для зернового сусла;

5) отбор молочнокислой засевной культуры для следующего цикла;

6) пастеризация подкисленного сусла при температуре 75 ºС в течение 30-ти мин;

7) охлаждение до температуры 30 ºС;

8) внесение засевных дрожжей в количестве 10 % от объема сусла;

9) размножение дрожжей до снижения концентрации сухих веществ на 2/3 от первоначальной величины.

Общая продолжительность получения молочнокислых дрожжей - 30 час.

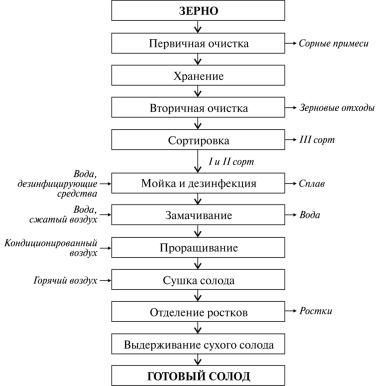
**Полунепрерывный способ**. Приготовление дрожжей проводят в установке, состоящей из двух дрожжанок и одного пастеризатора.

Предварительно готовят сусло в пастеризаторе, где его подвергают тепловой обработке и подкисляют серной кислотой до 0,7-0,8º.

При выращивании сернокислых дрожжей их размножают сначала периодическим способом в одной из дрожжанок. Затем 50 % дрожжей перекачивают во вторую свободную дрожжанку и обе доливают суслом концентрацией 14-15 % из пастеризатора, подкисляют серной кислотой до 0,7-0,8º. Оставляют на брожение при температуре 27-28 ºС на 6-8 час. После этого при концентрации сухих веществ 4-4,5 % из каждой дрожжанки 30 % зрелых дрожжей сливают в бродильный чан и дрожжанки вновь заливают пастеризованным суслом.

90.Производство ячменного солода.

Солод получают проращиванием высококачественного ячменя в искусственных условиях при определенной температуре и влажности (рис. 8.1). Процесс искусственного проращивания ячменя называется солодоращением, а полученный продукт — свежепроросшим солодом.



**Рис. 8.1. Производство ячменного солода**

Для получения светлого солода ячмень проращивают при низкой температуре — от 13 до 18 °С, для приготовления темного солода в первые сутки проращивания температура должна быть 15—17 °С, а в последующие — ее повышают до 22—25 °С. Продолжительность проращивания светлых солодов — 6—7 сут, темных — 8—9 сут. Основная цель солодоращения — накопление в зерне максимального количества активных ферментов, главным образом амилолитических. Под действием ферментов запасные вещества эндосперма зерна (крахмал, гемицеллюлоза, белки) подвергаются гидролизу.

Амилолитическая активность солода позволяет определить его самоосахариваемость. Осахаривающая способность выражается количеством мальтозы (г), образующейся из крахмала под действием ферментов 100 г солода. Быстрая самоосахариваемость — одно из основных требований, предъявляемых к пивоваренному солоду. Осахаривающая способность светлого свежепроросшего солода 300—400, темного — 400—500 ед./г.

Кроме амилолитических, в солоде значительно возрастает активность цитолитических, протеолитических и других ферментов. Под действием цитолитических ферментов происходит гидролиз гемицеллюлозы с образованием пентоз и гексоз. Белки зерна под действием протеолитических ферментов гидролизуются до пептидов и свободных аминокислот. Содержание аминокислот в солоде по сравнению с зерном увеличивается примерно в 4,5 раза.

При солодоращении происходит расщепление фосфорорганичес- ких соединений под действием фосфатаз. Общая титруемая кислотность во время солодоращения повышается с 1,5—2,5 до 4,5—7,5 см31 М раствора щелочи на 100 г зерна. Повышение кислотности происходит в результате образования карбоновых кислот при неполном окислении углеводов и дезаминировании аминокислот. Кроме того, кислотность повышается за счет образования кислых соединений фосфорной кислоты.

В зависимости от степени аэрации в зерне кроме диоксида углерода всегда образуется некоторое количество продуктов неполного окисления и сбраживания сахаров и продуктов их взаимодействия — альдегидов, карбоновых кислот, этанола и эфиров. В ячменном све- жепроросшем солоде обнаружены следующие кислоты: щавелевая, лимонная, яблочная, молочная, янтарная, муравьиная, уксусная и пропионовая. Наличие кислот, эфиров и спирта обусловливает специфический, приятный запах ячменного солода, напоминающий запах свежих огурцов.

Свежепроросший солод не может быть использован при приготовлении пивного сусла, так как по химическому составу он не удовлетворяет предъявляемым требованиям и в связи с большой влажностью является очень нестойким продуктом. Сухой солод — стойкий продукт со специфическим цветом, ароматом и химическим составом — получают после сушки свежепроросшего солода на специальных сушилках при строгом соблюдении температурного режима: при сушке светлого солода температуру с 25 °С постепенно повышают до 75—80 °С, при сушке темного — до 100—105 °С.

Влажность светлого солода в процессе сушки снижается с 45% до 3,5—4,0%, темного солода — до 2%. При этом в солоде протекают глубокие биохимические, химические и физико-химические процессы, изменяющие его объем, вкус, цвет, запах и химический состав.

В первый период сушки — физиологический, протекающий при температуре 45 °С с понижением влажности солода до 30%, — зародыш остается живым: продолжается рост корешков и стеблевого листочка, протекают ферментативные процессы в эндосперме (накапливаются растворимые сахара, аминокислоты и растворимые белки). Во второй период сушки — ферментативный, протекающий при температуре от 54 до 70 °С с понижением влажности до 10%, — процессы жизнедеятельности в зерне затухают, а ферментативные процессы и химические превращения продолжаются.

В третий период сушки — химический, протекающий при температуре от 70 до 105 °С, — все ферментативные процессы прекращаются. На этой стадии образуются ароматические и красящие вещества. Основная реакция — меланоидинообразование — протекает за счет окислительно-восстановительных реакций между редуцирующими сахарами и аминокислотами. Полнота взаимодействия аминокислот с сахарами зависит от температуры и продолжительности нагревания.

Для образования меланоидинов с наиболее приятными органолептическими свойствами оптимальной является температура 95— 100 °С. Пониженные температуры замедляют скорость реакции. При повышенных температурах меланоидины образуются интенсивнее, однако они обладают слабым ароматом и плохо растворяются в воде. Меланоидины — хорошие пенообразователи, они имеют явно выраженную кислую реакцию и восстановительные свойства.

У сухого солода удаляют ростки, которые после сушки становятся хрупкими, так как готовому пиву ростки придают горький и неприятный вкус. Для пивоварения используют солод, выдержанный не менее 3—4 недель. За это время в нем медленно протекают физикохимические процессы, которые окончательно делают его пригодным для производства пива.

Неотлежавшийся солод очень хрупкий, вследствие этого мякинная оболочка при дроблении сильно измельчается, а эндосперм дает много крупки и мало муки, солод плохо осахаривается при затирании, а затор плохо фильтруется. Такой солод быстро поглощает влагу, поэтому хрупкость его исчезает. За время отлежки влажность солода повышается до 5—6%. При длительном хранении возможно большее поглощение влаги. На небольших заводах солод хранят в закромах слоем 3—4 м.

На производство зерно поступает рельсовым 1 или автомобильным транспортом 2. При выгрузке в приемный бункер устанавливается защитная решетка, которая предварительно задерживает крупные посторонние предметы. С приемного бункера зерно поступает на ленточный транспортер и далее с помощью зернового элеватора (нории) 3 зерно поднимается на очистку в магнитный сепаратор 4, где удаляются металлические примеси. Потом зерно взвешивается на автоматических весах 5 и направляется в воздушно-ситовой сепаратор 6. В нем происходит отсев более грубых и тонких частиц с помощью комплекта вибрационных сит, совершающих возвратно-поступательные движения, и удаление легких частиц (пыли и легких взвесей) с использованием отдельной аспирационной камеры.

После чего зерно направляется в пробоотборник 7 и поступает на хранение в специальные емкости для хранения сыпучих продуктов - силосы 8.

Норией 9 зерно направляется в магнитный сепаратор 10, взвешивается на автоматических весах 11 и направляется в воздушно-ситовой сепаратор 12. Далее применяют специальные устройства для удаления половинчатых и округлых семян посторонних культур - триеры 13. После прохождения триера зерна следуют в распределитель 14, откуда направляются в сортировочные машины 15.

В процессе сортировки идет разделение основной культуры на фракции по размеру зерна (толщине и ширине). Размер зерна влияет на дальнейшие стадии замачивания и получение готового солода. Мелкие зерна быстрее поглощают воду. Поэтому если зерна не отсортировать, солод получится неравномерного качества.

К примеру, одним из вариантов прохождения этапа сортировки служит применение специальной машины, планзихтера. В его конструкцию входят 20-28 рам с горизонтальными ситами, расположенных друг под другом в общем корпусе, или с применением сортировочного цилиндра с ситами, отверстия которых различны (обычно 2,2 и 2,5 мм).

При сортировке с помощью сит ячмень разделяют на три фракции:

Первый сорт или крупный ячмень Состоит из самых толстых зерен, от которых ожидают крупный выход солода, и как следствие, напиток лучшего качества. Количество этой фракции наибольшее, по ней определяют стоимость всей партии.

Второй сорт или мелкий ячмень В эту фракцию попадает ячмень, задержавшийся на сите с меньшим диаметром отверстий. Ее должно быть, как можно меньше и перерабатывается она отдельно.

Третий сорт или отходы сортировки Малоценные зерна, непригодные для производства солода, но являющиеся ценным кормом для скота. (Максимальное количество 2,5%.)

После этапа сортировки каждый сорт взвешивается на автоматических весах 16 и следует в свой отдельный бункер 17, 18, 19 на временное хранение.

Отсортированный ячмень попадает на мойку, дезинфекцию и замачивание. Затем зерно проращивается и получается зеленый (молодой) солод. Далее идет сушка, охлаждение и очистка от ростков. После всех этапов готовый солод отправляется на хранение.

Рассмотрим технологию поэтапно.

Мойка и замачивание ячменя

Данные этапы являются первыми при переработке зерна на солод и применяются для активизации в зерне ферментных систем, способствующих прорастанию.

Среди основных задач процессов мойки и замачивания ячменя стоят: мойка, дезинфекция, вымывание горьких веществ (избытка полифенолов) и главное, достижение необходимой влажности.

Влажность при мойке и замачивании

Показатель влажности играет наибольшую роль в процессе замачивания. Обычно перед замачиванием влажность ячменя составляет не более 14,5 %. В процессе замачивания стараются достигнуть влажности, при которой идет прорастание зерна - 41– 48 %. Причем конечное значение влажности называют степенью замачивания.

Во время замачивания вода обеспечивает:

доступ питательных веществ к зародышу (строение зерна подробно описано в статье “Ячмень в пивоварении”). Именно зародыш во время прорастания будет потреблять питательные вещества. Без поступления влаги в зерно процесс перехода растворимых питательных веществ в растворимое состояние и их последующая транспортировка к зародышу не будут возможны.

проникновение в эндосперм ферментов (про эндосперм также читайте в статье “Ячмень в пивоварении”). В сухом состоянии ферменты не могут двигаться по зерну. Под воздействием воды, проникая в эндосперм, они переводят резервные вещества зерна из нерастворимого состояния в растворимое. В растворимом состоянии эти вещества усваиваются зародышем.

Задачи процесса замачивания:

Удаление пыли, легкой зерновой и незерновой примеси после очистки и сортировки зерна (этап мойки)

Дезинфекция зерна

Доведение зерна до необходимой для проращивания влажности

Мойка как на производствах, так и в домашних условиях осуществляется путем энергичного перемешивания зерна с водой. При этом зерновая и незерновая примеси всплывают на поверхность воды. Эти всплывшие примеси называются сплав, которые удаляется, высушивается и при промышленных объемах направляется на корм скоту.

Оптимальная температуры воды при мойке и замачивании 12-14 С. При более высокой температуре идет развитие гнилостной микрофлоры. При более низкой замедляются физиологические процессы.

Технология мойки на солодовенных производствах совсем незамысловатая:

Чистый замочный аппарат частично заполняется водой

Тонкой струей добавляется ячмень

Сверху доливается вода с таким расчетом, чтобы ее уровень был выше зерна

Вода и зерно интенсивно перемешивается воздухом

Грязная вода вытесняется подведенной снизу к аппарату чистой водой

В воду добавляют дезинфицирующие вещества и оставляют на 2 часа

В качестве дезинфицирующих веществ используются:

хлорная известь (содержит 33% активного хлора) - 3 г на 10 кг зерна

концентрированная серная кислота - 3 мл на 10 кг зерна

раствор перманганата калия KMnO4 или в простонародии “марганцовка” - 0,1 г на 10 л воды

Солодоращение

Существует множество технологий солодоращения. Выделяют из них 2 основных: токовое и пневматическое.

Токовое солодоращение

Токовое является устаревшим, но все же на некоторых солодовнях его продолжают использовать. Ток – ровная цементная площадка для ращения зерна внутри солодовни. Для оттока воды ток имеет уклон 2 градуса в сторону водоотводящего канала, которые делают с двух сторон.

Пол перед загрузкой дезинфицируют хлорной известью или формальдегидом. Вентилирование производится кондиционированным воздухом, температура 10-12 градусов при создаваемой относительной влажности 90%. Нагретый воздух отводится обычно через люки в потолке.

Ворошение на токах осуществляют вручную лопатой, что требует существенных человеческих ресурсов и времени.

Первоначальная толщина слоя замоченного зерна 40 см, далее слой уменьшают до 10-15 см.

Уход за прорастающем зерном заключается в поддержании температуры не выше 18 градусов, умеренной влажности. своевременном удалении CO2 и ворошении.

Зерно начинают ворошить через 24 часа после его загрузки. В период самого интенсивного роста его ворошат от 3 до 6 раз в сутки. В этот период зерно должно отпотевать – покрываться влагой за счет дыхания. Если так не происходит, зерно орошают водой (20л на 1 т зерна). В результате корешки достигают длины в 1,5 раза длиннее зерна, а листок ¾ длины зерна. Далее процессы роста замедляются.

Солодоращение на току разделяют на 2 ключевых этапа: первую и вторую половину ращения.

Важно понимать происходящие в зерне процессы, поэтому расскажу более детально.

Первая половина ращения

Длительность 3-4 суток. Зерно развивается и растет. При этом активизируются и накапливаются ферменты. Идет усиленный рост зародыша. Запасные вещества переходят в растворимое состояние, но не накапливаются, а идут на синтез новых веществ зародыша.

Часть углеводов расходуется на дыхание. В результате дыхания зерна образуется углекислый газ и вода, выделяется тепло. Влага конденсируется на поверхности в виде росы, называемой на практике потом. Ростки развиваются, становятся ветвистыми и солод уже лежит более высоким слоем. Температура на данном этапе не должна превышать 17-18 градусов. Перелопачивание должно быть каждые 8 часов.

Вторая половина ращения

Длится трое суток. Происходит растворение эндосперма, появляется некоторое количество растворимых сахаров и аминокислот. Пышно проросшее зерно интенсивно дышит. Выделяется CO2, H20 и тепло. Углекислый газ быстро накапливается, угнетает рост зерна и способствует усилению ферментативных процессов. На второй стадии важно часто проводить рыхление зерна с уменьшением его слоя до 15-20 см в зависимости от температуры солода. Чем температура выше, тем нужно тоньше раскладывать солод.

Недостатком токовой солодовни в промышленных масштабах является низкая производительность, большие затраты ручного труда и сложность механизации работ.

При токовом солодоращении применяют ряд терминов. Узнать про них не помешает, т.к. применяются они повсеместно.

Наклюнувшиеся грядки – растительные грядки на стадии наклевывания. Корешок пробил основание и стал заметен в виде светлой точки. В данном случае говорят, что зерно строит глазки.

Развиливающаяся грядка – состояние грядки, когда корешки зародыша стали ветвиться.

Пневматическое солодоращение

В отличие от токового, где происходит естественный контакт зерна с окружающим воздухом, в пневматическом кондиционированный (увлажнённый и охлажденный) воздух необходимо нагнетать искусственно под давлением. Количество продуваемого воздуха должно обеспечивать зерно необходимым количеством кислорода для интенсивного течения жизненных процессов. В данном методе воздух в гряде нагревается и уменьшается его относительная влажность, поэтому он забирает влагу у проращиваемого материала. Не трудно догадаться, следствием является невозможность отпотевания.

Высота слоя зерна 1,5м.

Сушка солода

Если процесс солодоращения вовремя не прервать, то большая часть крахмала, находящегося в зерне, будет израсходована на прорастание.

C целью остановки биологических процессов, протекающих в зерне, проводят сушку.

Основными целями процесса сушки являются:

Снижение влажности зерна до 4-5%, при данной влажности зерно может длительно хранится без рисков порчи.

Остановка процессов растворения содержимого и активности ферментов в зерне

Сохранение накопленной ферментативной активности

В процессе солодоращения зерно активно набирает влагу. К концу процесса влажность в зерне достигает 40%. При такой влажности в зерне могут активно развиваться микробы и плесени. Поэтому необходимо снизить влажность до 4%. Это позволит длительно хранить солод и облегчить его транспортировку и использование.

Температура сушки пророщенного зерна очень важный параметр. При неправильном проведении данного процесса можно испортить солод.

При высокой температуре сушки накопленные в солоде ферменты будут разрушаться и тем самым снизится ферментативная активность в целом. Так же влажный крахмал при высоких температурах начинает клейстеризоваться. В результате чего после охлаждения получается «стекловидный солод». Он уже не пригоден для переработки.

Сушку солода проводят тёплым воздухом с температурой 50-60 градусов Цельсия. Процесс ведут при такой температуре до тех пор, пока влажность в зерне не упадет до 10-12%. Затем температуру поднимают до 80 градусов Цельсия и сушат солод до влажности 2%.

По окончанию сушки солод имеет температуру 80 градусов Цельсия. Его охлаждают продувкой холодным воздухом до температуры 30-40 градусов. После чего дают остыть до комнатной температуры.

Далее происходит очистка высушенного солода от ростков, которые не представляют ценности в последующих переработках и являются примесью. Их количество достигает 3-5%. Удаляются ростки на росткоотделительных машинах.

Сами ростки - наиболее ценный отход солодорощения, так как в них содержится большое количество питательных компонентов и они отлично подходят на корм скоту.

Готовый солод, имеющий влажность около 2%, передают на хранения в силосы.

готовыи солод

Если свежевысушенный солод отправить сразу же потребителю в переработку, то это приведёт к следующим последствиям:

получению слишком мелкого помола (для пива необходимы оболочки)

мутному и плохо фильтруемому суслу

замедленному брожению

недостаточному осветлению зеленого пива

неустойчивой коллоидной стабильности готового напитка

Во избежание данных последствий необходимо дать солоду отлежаться в сухом, хорошо проветриваемом помещении при температуре не выше 20 градусов (стоит не допускать процесса самосогревания зерна). Проветривать следует для того, чтобы не образовывался затхлый запах.

За время отлежки гигроскопичные оболочки солода наберут влагу и значение влажности в зерне достигнет оптимального значения 4-5%.

91.Приготовление пивного сусла.

Приготовление пивного сусла состоит из пяти основных технологических стадий:

* подготовка зернопродуктов (очистка, сортировка, дробление);
* перевод экстрактивных веществ зернопродуктов (крахмал, белок и др.) в раствор, то есть сусло, в результате затирания;
* фильтрование затора (отделение сусла);
* кипячение сусла с хмелем (охмеление);
* осветление и охлаждение сусла.

**Подготовка зернопродуктов**

Основными компонентами экстракта солода являются крахмал, другие углеводы и белки. Поэтому эндосперм, в котором содержатся указанные вещества, необходимо измельчить как можно мельче. Из хрупкой части эндосперма в процессе дробления получают муку и мелкую крупку, а в противоположной от зародыша части зерна — крупную крупку (грубый помол). В результате такого дробления полученный солод или смесь измельченного солода и ячменя или других несоложеных материалов представляет собой смесь частичек, разделенных по внешним признакам на шелуху, крупную крупку, мелкую крупку и муку.

Сухое вещество муки и мелкой крупки, из которой образовывается экстракт, легко расщепляется ферментами при затирании и полностью переходит в раствор. Из полученной крупной крупки, из-за того, что тяжело просачивается вода, сухое вещество экстрагируется не полностью, поскольку такая крупка медленно расщепляется ферментами, нерастворимый экстракт переходит в дробину.

Скорость фильтрования зависит от качества помола (содержания шелухи, крупной крупки, мелкой крупки, муки), высоты слоя дробины и от объема измельченного солода.

Выбор солода и его заменителей согласно технологическим требованиям и его дробление обеспечивают высокое качество сусла и пива. Основной частью зернопродуктов в заторе является высококачественный отлежавшийся солод.

Перед дроблением солод и его заменители необходимо очистить от пыли, органических и неорганических примесей. Для этого используют воздушно-ситовые сепараторы с магнитными устройствами, подвижными ситами и пылеотделителями.

Перед дроблением солод увлажняют, благодаря чему оболочка становится более мягкой и лучше отделяется от ядра, образовывая оптимальный фильтрационный слой в фильтрационном аппарате при фильтровании затора.

Целью дробления солода является создание благоприятных условий для действия воды и ферментов на фракции помола, а также ускорения физических и химических процессов, чем обеспечивается быстрое растворение веществ и ферментативное преобразование нерастворимых соединений (крахмал, белки и тому подобное) в растворимые, то есть нужно добиться полного переведения экстракта зернопродуктов в сусло.

**Перевод экстрактивных веществ зернопродуктов в раствор (затирание)**

В заторном аппарате осуществляются смешивание (затирание) измельченного солода и ячменя с водой, нагревание и кипячение заторной массы.

Целью затирания измельченного солода или смеси измельченного солода и несоложеного сырья является перевод в растворимое состояние с помощью ферментов солода максимального количество веществ. При смешивании или смеси измельченных солода и несоложеных материалов растворяются частички веществ, которые способны переходить в раствор без участия ферментов, и набухают вещества, которые находятся в коллоидном состоянии. В процессе затирания необходимо создать оптимальные температурные условия для действия ферментов. Поэтому предусматривают выдержку затора при температуре наиболее благоприятной для действия пептидаз и цитолитических ферментов, накопления мальтозы или декстринов до полного осахаривания крахмала.

В процессе затирания крахмал подвергается изменениям, которые происходят в три стадии: клейстеризация, разжижение и осахаривание. Разжижение крахмала, сопровождается распадом крахмальных зерен к размерам одной молекулы и снижением вязкости. Последнего достигают энергичным размешиванием клейстера, то есть механическим раздавливанием набухших крахмальных зерен. В дальнейшем действие ферментов приводит к резкому снижению вязкости и накоплению декстринов и мальтозы.

Под техническим термином «осахаривание» в пивоварении понимают не только процесс преобразования крахмала в сахар, но и определение изменений природной окраски йодного раствора. При осахаривании образуются как сахара, так и декстрины. Обработанный раствором йода крахмал дает характерную синюю окраску йода. Процесс ферментативного гидролиза крахмала сопровождается образованием менее сложных молекул углеводов, что по-разному изменяет окраску йодного раствора. Последний от синего, фиолетового и коричневого переходит в соответствующую окраску чистого раствора йода. Полученные в результате гидролиза крахмала декстрины являются углеводами менее сложными, чем крахмал, но имеют более низкую редуцирующую способность, чем мальтоза.

Осахаренный затор температурой 75-78 °С передается на фильтрование.

**Фильтрование затора**

Фильтрование затора проводят в фильтрационных аппаратах.

Фильтрованием называют процесс разделения неоднородных систем с твердой дисперсной фазой, которая основывается на задержании твердых частиц и пропуске жидкости пористыми перегородками. Грубые частички отделяемой твердой фазы могут быть фильтрующим слоем.

Различают две стадии процесса фильтрования: первая, при которой происходит фильтрование первого (основного) сусла, и вторая, когда извлекается вымывной экстракт, удерживаемый дробиной.

В процессе промывания дробины водой удерживаемый ею экстракт первого сусла благодаря процессам диффузии переходит в раствор. С целью ускорения диффузии дробину перемешивают разрыхлителем и непрерывно орошают горячей водой температурой 75-78 °С.

Использование воды более высокой температуры приведет к инактивации амилазы, а также является причиной клейстеризации крахмала, который остался в кончиках солодовых зерен, и как следствие — к получению мутного сусла, пиво из которого может иметь клейстерное помутнение.

Первое сусло и промывные воды должны быть прозрачными, поскольку наличие в них мелких нерастворимых частиц заторной массы придает пиву грубый вкус и может быть причиной его плохого осветления.

Первое сусло и промывные воды собирают в сборнике для фильтрованного сусла до определенной массовой доли сухих веществ соответствующей сорту пива.

**Кипячение сусла с хмелем**

Сусло, которое поступает из фильтрационного аппарата, кипятят с хмелем в сусловарочном аппарате.

Целью кипячения сусла с хмелем является стабилизация его состава и ароматизация хмелем. Кипячением достигают упаривание сусла до установленной концентрации, экстрагирование из хмеля ароматических и горьких веществ, инактивация ферментов, коагуляция белков и стерилизация сусла.

Стерилизация сусла необходима для обеспечения чистоты брожения и получения стойкого продукта, ведь измельченный солод всегда содержит значительное количество микроорганизмов. Стерилизацию достигают после 15-минутного кипячения, чему в значительной мере оказывает содействие кислая реакция сусла. Стерилизацией сусла и распадом ферментов обеспечиваются стабильность его химического состава до брожения и получение стойкого продукта. Процесс ароматизации при кипячении сусла с хмелем происходит благодаря растворению специфических составных хмеля и химического взаимодействия между сахарами и продуктами распада белков. Процесс коагуляции белков и осветления сусла имеет важное значение для состава, полноты вкуса, цвета и прозрачности пива.

**Осветление и охлаждение сусла**

Целью осветления и охлаждения сусла является осаждение зависших частиц, снижение температуры, насыщение кислородом воздуха.

Осветление сусла проводят в гидроциклонных аппаратах. Горячее сусло входит в виде струи в цилиндрический аппарат тангенциально через входной патрубок. Зависшие частички сусла под действием гидродинамических сил собираются в центре дна, где образовывается конус осадка. Осветленное горячее сусло передается на охлаждение.

Холодное сусло, готовое для внесения дрожжей, для их размножения на первой стадии брожения должно быть насыщено растворенным кислородом. C этой целью используют впрыск стерильного отфильтрованного воздуха.

Охлаждение сусла до температуры брожения и насыщение кислородом воздуха проводят в пластинчатых охладителях (теплообменниках).

92.Главное брожение пивного сусла.

основной целью явл-ся получение напитка с приятным вкусом специфическим ароматом, насыщенным СО2.Молодое пиво имеет невыравненный вкус, содержит взвешенные частицы, в том числе дрожжевые клетки, а также определенное количество несброженных сахаров. Для достижения полноты вкуса, достаточной степени растворения диоксида углерода и осветления пиво дображивают в закрытых аппаратах при повышенном давлении и низкой температуре в лагерных отделениях. При дображивании медленно сбраживаются оставшиеся в молодом пиве сахара, а выделяющийся при этом диоксид углерода растворяется в пиве. Так как с повышением давления и понижением температуры растворимость газов возрастает, избыточное давление в лагерных аппаратах — на уровне 0,03...0,045 МПа. Содержание диоксида углерода в пиве имеет важнейшее значение: С02 придает пиву приятный и освежающий вкус, участвует в пенообразовании, предотвращает пиво от соприкосновения с кислородом воздуха, подавляет развитие посторонних микроорганизмов. В молодом пиве содержание С02 составляет 0,15...0,20 %.

93.Дображивание и обработка молодого пива.

Для дображивания молодое пиво перекачивают в герметично закрывающиеся металлические танки, внутренняя поверхность которых покрыта специальным пищевым лаком. В зависимости от сорта пиво выдерживают при температуре 0—3°С в течение 11—100 сут. В результате дображивания остаточного сахара несколько возрастает крепость пива, происходит дополнительное насыщение его углекислотой и осветление. Взаимодействие разнообразных первичных и вторичных продуктов главного и побочных процессов брожения приводит к формированию новых веществ, обусловливающих характерные вкус и аромат зрелого пива, а также его сортовые особенности.

После полного сбраживания сахаров идет процесс созревания пива. При созревании после охлаждения пива и выпадения в осадок веществ, которые растворяются при температуре главного брожения, происходит осветление пива. Благодаря осаждению дрожжевых клеток в пиве исчезает дрожжевой привкус. Происходит коагуляция хмелевых смол и смягчается привкус хмелевой горечи. В осадок переходят и белково-дубильные соединения.

В процессе созревания образуются эфиры, сложные эфиры и альдегиды, в результате чего пиво приобретает приятный вкус и аромат.

Обработка и розлив пива. После лабораторного и органолептического контроля, подтверждающих качество выработанного пива, его обрабатывают и разливают. Для придания прозрачности пиво фильтруют через прессованные пластины из различных фильтрующих масс, и лучшими из них являются диатомитовые (кизельгуровые) фильтры. В процессе осветления пиво теряет значительную часть двуокиси углерода, поэтому допускается дополнительное введение углекислоты перед розливом с последующей выдержкой в течение 4—12 ч для ее ассимиляции.

94.Подготовка крахмалосодержащего сырья к развариванию. Осахаривание разваренной массы.

Подготовка сырья к развариванию включает следующие операции:

- очистку от примесей;

- измельчение;

- приготовление замеса (кашки).

Зерно и картофель поступают на завод. Зерно после предварительной очистки **хранят** в элеваторах ,картофель - в буртах или картофелехранилищах.

Перед подачей в производство *зерно*предварительно **очищают** от пыли, земли, камней на воздушно-ситовых сепараторах, от металлических примесей - на магнитных сепараторах. Овес перед измельчением *обрушивают* (отделяют пленки) на овсорушках с рифленой поверхностью. Обрушивание необходимо, так как большое количество пленок в виде шелухи засоряет трубопроводы, брагоперегонные аппараты, всплывает на поверхность бродящего сусла и ухудшает процесс сбраживания.

*Картофель* от примесей земли, соломы, ботвы, камней, песка и др. освобождают с помощью соломоловушек и камнеловушек. Для окончательного отделения от земли картофель **моют**в картофелемойках 5-7 мин. Обычно используют теплую воду. Если картофель подмороженный, то моют только холодной водой.Зерно не моют.

Очищенное сырье направляют на измельчение. **Цель измельчения** - подготовить крахмал сырья к действию ферментов. Зерно и картофель в производстве спирта необходимо измельчать как можно тоньше, чтобы увеличить гидролиз составных веществ сырья.

Картофель измельчают на молотковых дробилках, зерно - на молотковых дробилках или вальцевых станках до размера. Более тонкое измельчение (до 0,25 мм) позволяет вести разваривание при более низкой температуре (80-105 ºС).

Измельченное зерно **смешивают с водой** в соотношении 1:2-1:3 (получают ***замес***), к картофелю добавляют 15-20 % воды от массы сырья (получают ***картофельную кашку***). Количество добавляемой воды должно быть таким, чтобы в полученном сусле концентрация сухих веществ составляла 18-19 %. При более высокой концентрации повышается вязкость массы и увеличивается расход осахаривающих материалов.

Крахмал, который содержится в клетках картофеля или зерна, окружен клеточной оболочкой и недоступен для действия амилолитических ферментов. Механическим разрушением удается вскрыть только часть клеток сырья. Поэтому, чтобы перевести крахмал из нерастворимого состояния в растворимое и полностью разрушить клеточную структуру, необходимо провести водно-тепловую обработку - **разваривание** сырья. **Цель разваривания**- подготовка крахмала сырья к осахариванию амилолитическими ферментами солода.

В процессе разваривания составные части сырья подвергаются различным превращениям.

**Крахмал**при нагревании в воде сначала *набухает* и превращается в гель. При дальнейшем повышении температуры вязкость раствора резко увеличивается и происходит *клейстеризация* крахмала.

**Сахара**участвуют в реакциях меланоидинообразования, карамелизации. В результате образуются соединения, которые не сбраживаются дрожжами, отрицательно влияют на жизнедеятельность дрожжевых клеток и качество спирта. Наблюдаются потери сухих веществ.

**Клетчатка** при разваривании под давлением практически не изменяется.

**Гемицеллюлозы** частично растворяются, частично гидролизуются до декстринов и пентоз.

**Пектиновые вещества** гидролизуются с образованием метилового спирта. Это вызывает трудности при ректификации, так как температуры кипения метанола и этилового спирта близки.

**Белки** при нагревании до 100 ºС коагулируются, частично денатурируются и в кислой среде гидролизуются. Количество растворимого азота уменьшается.

Перед развариванием с целью экономии пара на разваривание, а также для набухания и клейстеризации крахмала проводят **подваривание.**

Для этого замес быстро подогревают экстрапаром (вторичным паром) до температуры 85-95 ºС, выдерживают 1,0-1,5 час; картофельную кашку нагревают до 40-45 ºС, длительность выдержки не более 30 мин.

Так как при повышении температуры вязкость резко возрастает, то для снижения ее в замес (кашку) добавляют термоустойчивую бактериальную α-амилазу. Наряду с набуханием и клейстеризацией происходит частичный гидролиз крахмала до высокомолекулярных декстринов, за счет чего вязкость снижается.

После подваривания крахмалистое сырье поступает на разваривание, где подвергается обработке при высоких температурах.

Основные ***способы разваривания***: периодический, полунепрерывный, непрерывный. На большинстве заводов используют непрерывные способы.

*Непрерывные способы*. Сущность заключается в том, что сырье измельчают, подваривают, что позволяет смягчить режим варки, снизить потери сбраживаемых сахаров, увеличить выход спирта. Замес непрерывным потоком движется через все аппараты установки и удаляется из нее в готовом виде.

*Полунепрерывное разваривание*:сырье не измельчают, подваривание проводят. Разваривание сырья осуществляется периодически, а доваривание и отвод в осахариватель - непрерывно. Варка идет в три стадии: в предразварнике (происходит предварительный нагрев и набухание сырья), в разварнике (разваривание) и в выдерживателе-паросепараторе (доваривание). Разваренное сырье выдувают в выдерживатель, где сырье доваривается до полной готовности и отделяется избыток пара. Из него разваренное сырье непрерывно поступает на осахаривание.

*Периодическая схема*. Сырье не измельчают. Разваривание ведут в разварнике до полной готовности и разваренную массу выдувают в паросепаратор или непосредственно в осахариватель.

Готовность разваренной массы определяют по цвету. Он должен быть темно-желтым со светло-коричневым оттенком для зерновой массы, для картофельной массы - светло-коричневым с зеленоватым оттенком.

**Цель осахаривания** - гидролиз крахмала и других составных частей сырья с помощью ферментов осахаривающих материалов и получение осахаренного сусла. ***Осахаривающими материалами*** являются свежепроросший солод или микробные ферментные препараты.

*Солод*применяют в виде солодового молока: свежепроросший солод моют холодной водой, дезинфицируют хлорной известью или формалином в течение 20 мин, измельчают на дисковых или вальцевых дробилках. Затем смешивают с водой в соотношении 1:4-1:5, дополнительно обрабатывают раствором формалина, выдерживают 20-30 мин и передают на осахаривание.

Использование ферментных препаратов - прогрессивный способ осахаривания, так как исключаются потери сухих веществ сырья на проращивание, нет необходимости при спиртзаводах строить солодовни, ферментные препараты можно получать на специализированных биохимических заводах. Путем смешивания ферментных препаратов, имеющих различные группы ферментов, возможна регуляция углеводного и азотистого состава сусла.

При осахаривании крахмала в спиртовом производстве необходимо достичь полного его гидролиза до сбраживаемых сахаров. На практике ***осахаривание протекает на***нескольких технологических ***стадиях***:

- при разваривании сырья;

- при осахаривании при оптимальной температуре для действия ферментов;

- при брожении (температура благоприятная для жизнедеятельности дрожжей, но не ферментов).

*При разваривании* под действием бактериальной α-амилазы гидролиз крахмала незначителен, образуются, главным образом, декстрины.

*На стадии осахаривания*образуется максимальное количество сбраживаемых сахаров. Крахмал гидролизуется на 70-75 % до глюкозы и мальтозы и 25-30 % предельных декстринов. Причем если используется в качестве осахаривающего материала солод, то образуется 71-76 % мальтозы и 24-29 % глюкозы от суммы сбраживаемых сахаров; если применяют ферментные препараты, то 14-21 % мальтозы и 79-80 % глюкозы.

На скорость осахаривания крахмала влияют температура и рН среды. Оптимальная температура для действия амилазы солода на 2 %-й раствор картофельного крахмала составляет 53-58 ºС. Однако для клейстеризации нерастворенного крахмала, вносимого с солодом, и стерилизации замеса необходима более высокая температура. При таких температурах (свыше 56 ºС) амилаза инактивируется, но медленно. Поэтому осахаривание проводят при температуре 60-62 ºС. Эта температура хотя и выше оптимальной, но присутствующие в заторе защитные вещества (сахара, декстрины, пептиды) предохраняют амилазу от инактивации.

рН затора 4,9-5,6.

Осахаривание разваренной массы осуществляют непрерывным, реже периодическим способами.

Независимо от способа, *осахаривание* предусматривает следующие ***операции***:

- охлаждение разваренной массы до температуры осахаривания;

- смешивание с осахаривающими материалами;

- осахаривание крахмала;

- охлаждение сусла до температуры «складки», т.е. начальной температуры брожения;

- перекачивание сусла в дрожжевое и бродильное отделение завода.

**При периодическом осахаривании** все операции, кроме последней, выполняются в одном аппарате (заторном чане). ***При непрерывном*** - в отдельных аппаратах, устанавливаемых последовательно, или в одном аппарате, в котором происходит выполнение нескольких операций.

**Периодический способ** проводится в осахаривателе - заторном чанечашеобразной формы с мешалкой для перемешивания и змеевиком для охлаждения. В осахариватель набирают 5 % от всего количества осахаривающего материала и холодную воду, чтобы она покрыла лопасти мешалки. Включают мешалку и быстро выдувают из паросепаратора разваренную массу. Когда температура достигнет 75-80 ºС, в змеевик пускают воду. Массу охлаждают до температуры 62-63 ºС, добавляют остальное количество осахаривающего материала, перемешивают 5 мин и осахаривают при отключенной мешалке 15-20 мин. Конец осахаривания определяют по йодной пробе. Затем мешалку включают, в змеевик подают холодную воду и охлаждают сусло до температуры 29-30 ºС.

**Непрерывное осахаривание.**Существует несколько способов. Наиболее простой - *одноступенчатое осахаривание*. Проводят в осахаривателе \_\_ цилиндрической емкости со сферическим или коническим днищем, мешалкой, регулятором уровня и змеевиком для охлаждения. В осахариватель подают воду и часть осахаривающего материала. Затем из паросепаратора поступает разваренная масса, которую охлаждают до температуры 65 ºС. Вносят оставшееся количество осахаривающего материала. Температура при этом понижается до 57-58 ºС. Осахаривают 20-25 мин и затем в аппарат непрерывно подают разваренную массу и осахаривающие материалы и непрерывно отводят осахаренное сусло. Сусло охлаждают до температуры «складки» в теплообменнике типа «труба в трубе».

*Двухступенчатое осахаривание*. Разваренное сырье из паросепаратора непрерывно поступает в осахариватель первой ступени, куда вводят 30 % от всего количества осахаривающих материалов. Температура 60-61 ºС, продолжительность 10 мин. Конструкция осахаривателя аналогична аппарату в одноступенчатом способе.

Затем насосом затор перекачивают в осахариватель второй ступени, представляющий собой несколько труб длиной 5-6 м, соединенных на концах между собой «калачами». Вводят остальную часть (70 %) осахаривающих материалов. Температура 57-58 ºС, продолжительность 2-5 мин. Сусло охлаждают так же, как в предыдущем способе.

Осахаривание (как одно-, так и двухступенчатое) может проводиться с одно- или двухступенчатым ***вакуум-охлаждением***. Сущность вакуум-охлаж-дения заключается в том, что при разряжении (0,08 МПа) происходит самоиспарение воды, в результате чего температура массы почти мгновенно понижается от 104-105 ºС до соответствующей создаваемому разряжению (62-63 ºС).

При *одноступенчатом охлаждении* разваренную массу охлаждают в вакуум-испарительной камере, а осахаренное сусло в теплообменнике. При *двухступенчатом вакуум-охлаждении* и разваренную массу, и полученное сусло охлаждают в вакуум-испарительных камерах.

95.Особенности сбраживания сусла в спиртовом производстве.

**Цель** данной стадии - **сбраживание сахаров**сусла дрожжами и образование спирта. Кроме того, при брожении сусла одновременно происходит доосахаривание декстринов.

В процессе брожения можно выделить ***три периода***: возбраживание, главное брожение и дображивание.

В период *возбраживания*процесс размножения дрожжей, который не закончился в дрожжанках, продолжается в бродильном аппарате. Одновременно на этой стадии идет сбраживание сахаров.

На стадии *главного брожения* сбраживается основное количество сахара в спирт и СО2.

При *дображивании* происходит гидролиз декстринов до мальтозы и ее сбраживание.

Бродящее сусло называется **бражкой**.

Брожение проводят в закрытых бродильных аппаратах - вертикальных цилиндрических емкостях со сферическим или коническим днищем и крышкой. Внутри имеется змеевик для охлаждения бродящей среды.

Брожение проводят периодическим, циклическим и непрерывно-поточ-ным способами.

**Непрерывно-поточный способ** заключается в том, что каждая из трех вышеуказанных стадий проводится в одном или нескольких бродильных аппаратах, последовательно соединенных переточными трубами в батарею. Сбраживаемая среда непрерывно перемещается из одного аппарата в другой, из последнего аппарата зрелая бражка непрерывно отводится на перегонку. Концентрация дрожжей в течение всего процесса поддерживается постоянной и регулируется скоростью притока свежего сусла в батарею.

Установка состоит из 2-х дрожжанок, возбраживателя и 8-10 бродильных аппаратов. Дрожжанки служат для размножения производственных дрожжей полунепрерывным способом. В возбраживателе происходит первая стадия - возбраживание - накопление необходимой биомассы дрожжей (до 100-120 млн. клеток в см3), после чего содержимое возбраживателя перекачивают в головной бродильный аппарат. Когда первый аппарат заполнится суслом, начинается переток сбраживаемой среды во второй, в третий и последующие аппараты.

Температура в первом бродильном аппарате 26 ºС; во втором - 27 ºС; в третьем - 29-30 ºС; в остальных 27-28 ºС.

В первых 3-4-х аппаратах идет главное брожение, выделяется много тепла, поэтому аппараты снабжены змеевиками или рубашками охлаждения. В остальных аппаратах батареи идет дображивание, змеевики отсутствуют, так как тепла выделяется мало.

Для обеспечения непрерывности процесса и предупреждения развития посторонних микроорганизмов проводят профилактическую стерилизацию бродильных аппаратов поочередно, но в разные сроки для головных аппаратов и остальных. Головные бродильные аппараты моют и дезинфицируют через 48-60 час после начала притока сусла, остальные - через 60-72 час.

**Циклический способ** - это разновидность полунепрерывного способа, где возбраживание и главное брожение протекают непрерывно, а дображивание - периодически.

Установка включает 2-3 дрожжанки, 1 возбраживатель, 6-7 бродильных аппаратов, соединенных переточными трубами в батарею.

Дрожжи готовят периодическим способом. Бродящим суслом с дрожжами непрерывно заполняют за 25-30 час с 1-го по 6-й аппараты, затем приток сусла прекращают и переводят на другую параллельную батарею. В первой батарее проводят дображивание при температуре не выше 30 ºС в течение 32-38 час.

Пока заполняется вторая батарея, в первой заканчивается дображивание. Ее освобождают от бражки, начиная с концевого аппарата (шестого), последовательно по направлению к головному (первому). Новый цикл брожения начинается с 7-го аппарата, который становится головным, переходя к 6-му, 5-му, 4-му, 3-му и 2-му аппаратам после их освобождения и стерилизации.

Таким образом, в первом цикле брожения сбраживаемый поток движется в одном направлении (от 1-го к 6-му аппарату), во втором цикле - в обратном (от 7-го ко 2-му аппарату). При смене цикла крайние бродильные аппараты (1-й и 7-й) становятся головными. Стерилизация батареи осуществляется в противоположном направлении: в первый раз от концевого аппарата к головному, во второй раз - наоборот.

Недостатком данного способа сбраживания является неодинаковая продолжительность пребывания бражки в отдельных аппаратах: наибольшая - в головных, наименьшая - в концевых, средняя - в остальных аппаратах. Это ведет к инфицированию и закисанию бражки, а следовательно, к потерям сахаров и снижению выхода спирта.

**Периодический способ**. Все стадии от начала до конца идут в одном аппарате. Бродильный аппарат заполняют осахаренным охлажденным суслом, вносят дрожжи в количестве 6-8 % от объема сусла. Продолжительность брожения может быть 72 час (в этом случае начальная температура брожения 18-20 ºС), либо 48 час (температура «складки» 24-25 ºС).

Температура в период главного брожения - 29-30 ºС; в период дображивания - 27-28 ºС. Температуру регулируют подачей воды в змеевик.

По окончании брожения получают полупродукт, который называется **зрелая бражка**. Ее направляют на перегонку. Бродильный аппарат моют горячей водой, дезинфицируют, пропаривают и снова используют для брожения.

96.Выделение спирта из зрелой бражки и его очистка.

Получаемая в результате брожения зрелая бражка имеет сложный состав. Кроме воды и спирта она содержит различные органические и неорганические соединения: сахара, декстрины, минеральные вещества, летучие соединения (эфиры, спирты, альдегиды, кислоты) и др. Состав и содержание примесей зависит от вида сырья, его качества, режимов его переработки в ходе технологического процесса.

Для выделения спирта из бражки и его очистки применяется ректификация. Ректификацией называется процесс разделения смеси, состоящей из двух или большего числа компонентов, кипящих при разных температурах. При кипении такой смеси компонент с более высокой упругостью пара (более летучий) переходит в паровую фазу в относительно больших количествах, и паровая фаза обогащается более летучим компонентом. Температура кипения этого компонента при постоянном давлении ниже. Поэтому при кипении смеси летучих компонентов паровая фаза обогащается компонентом, имеющим более низкую температуру кипения. В водно-спиртовом растворе упругость паров спирта при любой температуре значительно выше упругости на ров воды. Вследствие этого содержание спирта в парах больше чем в кипящем водно-спиртовом растворе.

При кипячении зрелой бражки и конденсации выделяющихся паров (перегонка) получают продукт, называемый спиртом-сырцом. Спирт-сырец содержит около 0,5% различных летучих примесей (спирты, альдегиды, эфиры и кислоты). Процесс очистки спирта-сырца от примесей называется ректификацией. Примеси спирта-сырца по степени летучести можно разделить на три группы: головные, хвостовые и промежуточные. К головным относятся более летучие, чем этиловый спирт, компоненты, температура кипения которых ниже температуры кипения этилового спирта (уксусный альдегид, уксуснометиловый и уксусноэтиловый эфиры). Хвостовыми примесями называют менее летучи компоненты, чем этиловый спирт, имеющие более высокую температуру кипения. К хвостовым относится ряд спиртов (пропиловый, изопропиловый, изобутиловый, амиловый и др.), получивших название сивушных масел. Промежуточными считаются примеси, которые в зависимости от условий ректификации могут быть или головными или хвостовыми (изомасляноэтиловый, изовалерианоэтиловый эфиры).

Получение спирта-сырца из бражки осуществляется на перегонной установке, состоящей из ректификационной колонны, дефлегматора и холодильника. Установки могут быть одно - или двухколонными. Колонна представляет собой вертикальный цилиндр, разделенный по высоте горизонтальными перегородками (тарелками). В нижней части колонны, называемой бражной, происходит выделение спирта из бражки, а в верхней части (спиртовой) укрепляются водно-спиртовые пары. Процесс идет следующим образом. Зрелая бражка подается в дефлегматор, нагревается и стекает на верхнюю тарелку бражной части колонны, в которую снизу поступает пар для нагрева бражки. Образующиеся пары поднимаются вверх и обогащаются спиртом, а бражка по мере стекания освобождается от спирта. Бражка, выходящая из нижней части колонны и не содержащая спирта, называется бардой. Поднимающиеся в колонне водно - спиртовые пары проходят через тарелки, обогащаются спиртом и с верхней тарелки спиртовой колонны поступают в дефлегматор, где частично конденсируются. Полученный в дефлегматоре конденсат, называемый флегмой, стекает па тарелки спиртовой колонны. Таким образом, водно-спиртовые пары из бражной колонны проходят через слой флегмы, находящейся на тарелках спиртовой колонны. Спиртовые пары, несконденсировавшиеся в дефлегматоре, поступают в холодильник и конденсируются.

Полученный спирт-сырец должен удовлетворять определенным требованиям, по органолептической оценке, (внешний вид, вкус, запах), по содержанию примесей и этилового спирта. Крепость спирта-сырца должна быть не менее 88 об.%.

Очистку спирта-сырца от примесей производят в настоящее время преимущественно на ректификационных установках непрерывного действия, в которых спирт-сырец освобождается от примесей в соответствии со значениями коэффициентов испарения. Такие установки используются на ликеро-водочных заводах, где основным сырьем является спирт-сырец.

В установку входят три колонны: бражная, эпюрационная и ректификационная. В бражной колонне из бражки выделяют этиловый спирт и летучие примеси, в эпюрацнонной отделяют головные примеси, в ректификационной получают ректификованный спирт. В состав установки входят две дополнительные колонны — сивушная н окончательная. Сивушная колонна предназначена для выделения фракции высших спиртов (сивушное масло) и их концентрации, а окончательная колонна — для дополнительного освобождения этилового спирта от примесей.

На установке косвенного действия процесс ректификации осуществляется следующим образом. Бражку подогревают до 90°С в бражном подогревателе и подают на верхнюю тарелку бражной колонны, в которую снизу поступает греющий пар. Пары, поднимающиеся из бражной колонны, поступают в конденсатор через бражный подогреватель, где отдают тепло поступающей в бражную колонну зрелой бражке. В конденсаторе пар полностью конденсируется и полученный конденсат крепостью 45—55 об.% поступает в эпюрационную колонну.

Пары из эпюрационной колонны поступают в дефлегматор, где частично конденсируются, флегма (конденсат) возвращается в колонну, а несконденсировавшиеся пары поступают в конденсатор, в котором полностью конденсируются. Полученный конденсат (головная фракция) выводят через холодильник. Из нижней зоны эпюрационной колонны отводят спирт-эпюрат крепостью 40 об. о/о и направляют его в ректификационную колонну. Спиртовые пары направляются в верхнюю часть колонны, а жидкий ректификованный спирт крепостью 96,2—96,5 об.% отбирают с четвертой—шестой тарелок (считая сверху), подают на холодильник, а затем через контрольный снаряд — в спиртоприемное отделение. С нижних тарелок ректификационной колонны отбирают сивушные масла.

Для улучшения качества ректификованного спирта устанавливают колонну окончательной очистки, на которой выделяют из ректификованного спирта остатки примесей. В этом случае ректификованный спирт из ректификационной колонны подают на шестую тарелку (считая сверху) колонны окончательной очистки. Поднимающиеся в колонне пары поступают в дефлегматор и конденсатор. Конденсат, содержащий выделенные головные примеси, направляют в верхнюю часть эпюрационной колонны, а ректификованный спирт отбирают из нижней части колонны окончательной очистки и через холодильник и контрольный снаряд направляют в спиртоприемное отделение.

Количество выработанного спирта в спиртовом [производстве](https://msd.com.ua/) определяют по объему безводного спирта при температуре + 20°С. При помощи мерников объемом от 250 до 1000 дал определяют объем спирта и по содержанию этилового спирта, т. е. крепости, находят количество безводного спирта. Содержание этилового спирта в водно-спиртовых растворах определяют специальными ареометрами-спиртомерами.

В зависимости от степени очистки спирт этиловый ректификованный, предназначенный для пищевых целей, выпускается I сорта, высшей очистки и экстра. Спирт I сорта и высшей очистки вырабатывают из зерна, картофеля и мелассы. Спирт экстра вырабатывают из кондиционного зерна. В ректификованном спирте I сорта содержание этилового спирта не менее 96,0 об.°/о, примесей — 0,1 г/л. Спирт высшей очистки содержит этилового спирта не менее 96,2 об.%, примесей — 0,05 г/л. Ректификованный »спирт экстра должен содержать не менее 96,5об. % этилового спирта и не более 0,01 г/л примесей.

97.Получение спирта из мелассы.

Меласса -побочным продуктом в производстве сахара. В России для производства спирта используется преимущественно свеклосахарная меласса.

Для производства спирта меласса - наилучшее сырье. Ценность ее заключается в том, что наряду с высоким содержанием сахара в ней находятся все вещества, необходимые для нормальной жизнедеятельности дрожжей. При переработке мелассы упрощается технологическая схема, так как исключается операция разваривания сырья и осахаривания крахмала ферментами. Мелассу принимают по массе в специальном отделении завода, в котором ее перекачивают в специальные аппараты - рассиропники.

При переработке на спирт мелассы подготовка ее сводится к гомогенизации, подкислению, асептированию, добавлению питательных веществ для дрожжей и разбавлению водой. Мелассу, сильно инфицированную микроорганизмами, подвергают тепловой стерилизации. В зависимости от переработки мелассы - одно- или двухпоточной - готовят мелассное сусло одной или двух концентраций сухих веществ.

Мелассное сусло необходимо сбраживать в условиях, исключающих развитие посторонних микроорганизмов, продукты обмена которых отрицательно влияют на жизнедеятельность дрожжей. Сбраживание мелассного сусла протекает нормально при рН около 5. Для подкисления используют серную или соляную кислоту. Во избежание разрушения сахаров мелассы серную кислоту предварительно разбавляют четырех-пятикратным количеством воды. Оборудование должно быть выполнено из кислотостойкой стали.

Для лучшего питания дрожжей при брожении к мелассе в специальном смесителе добавляют ортофосфорную кислоту, сульфат аммония и мочевину.

В условиях непрерывного сбраживания мелассы особое внимание следует уделить непрерывному приготовлению сусла. Для разбавления мелассы применяют непрерывнодействующие смесители двух типов: с механическим размешиванием и без него.

С повышением интенсивности аэрирования сусла в дрожжегенераторах содержание спирта снижается, что связано с увеличением расхода сахара на синтез биомассы дрожжей и образование других продуктов брожения.Мелассное сусло сбраживается различными расами дрожжей, чаще - одновременно двумя.На спиртовых заводах, перерабатывающих мелассу применяют одно- или двухпоточные схемы сбраживания сусла.

По однопоточному способу меласса сначала гомогенизируется. Дефектная меласса сначала стерилизуется, затем охлаждается в специальном теплообменнике и смешивается с нормальной мелассой. Затем меласса подкисляется, асептируется и обогащается питательными веществами для дрожжей в специальном смесителе. Затем она разбавляется до концентрации сухих веществ 35-40%, очищается от взвешенных примесей и, наконец, окончательно разбавляется до концентрации 22 %. Мелассное сусло сначала используют для культивации дрожжей, а затем непрерывно сбраживают ими. Сущность двухпоточного способа в том, что основное сусло сбраживается в 4-х последовательно соединенных аппаратах дрожжами, выделенными из зрелой бражки на сепараторах. Основная особенность двухпоточного способа - сепарирование дрожжей и возвращение их в начало бродильной батареи для многократного использования. Многократное использование возвращаемых дрожжей ведет к сокращению и устранению лаг-фазы, и приводит к повышению интенсивности брожения.

Брожение мелассного сусла происходит в батарее последовательно соединенных ферментеров периодическим или непрерывным способами. Ферментеры представляют собой цилиндрические аппараты вместимостью 50–100 м3 с перемешивающими устройствами, змеевиками и барботерами для подвода воздуха. Выход спирта с 1 м3 ферментера составляет 2–8 дал/сут. Из 1 т мелассы получают 66,5 дал спирта. При двухпоточном способе сахар сбраживается полнее, образуется меньше вторичных продуктов, дрожжи находятся в более активном физиологическом состоянии, выход спирта больше.

98.Первичная переработка скота.

1.Процесс убоя скота и разделки туш состоит из последовательных операций- оглушения, обескровливания, забеловки и съемки шкуры ( у свиней – шпарки и опалки с целью удаления щетины), извлечения внутренних органов, распиловки туши, оценки качества мяса и взвешивания.

Перед убоем прекращают кормление животных, за 24 часа КРС и МРС, за 12 часов свиньи. это необходимо для освобождения желудочно-кишечного тракта от части содержимого с целью улучшения санитарно-гигиенических условий при разделке туш и удалении внутренних органов. **1)оглушение** и подъем жив на путь обескровливания выделяют **электрооглушение, механическое** оглушение и **оглушение газом**. При электрооглушении возможно судорожное сокращение мускулатуры и перелом позвоночника и костей, кровоизлияние. Режим: частота тока 50 Гц, выходное напряжение 300Вт, сила тока 2А в теч 2-5с. Механический способ оглушения КРС: удар наносят в лобную часть, на линии пересечения глаз и рогов, так, чтобы не повредить лобную кость и исключить смертельный исход. Позволяет избежать переломов костей и внутренних кровоизлияний + мясо по качеству и технологическим свойствам. При оглушении газами примененяют газовую смесь (65% СО2 и 35% воздуха), в результате воздействия которой происходит анестезия животного при полной неподвижности и расслабленности мышц. Использование углекислотного оглушения существенно снижает вероятность внутренних кровоизлияний и обеспечивает эффективное обескровливание.

**2) обескровливание** осуществляется чтобы не ухудшить качество мяса, далее идет сбор крови. Для обескровливания перерезают ножом сплетение кровеносных сосудов в области шеи. Кровь для пищевых целей отбирают полым ножом. Полый нож через разрез шкуры вводят вдоль трахеи в грудную полость, прокалывают аорту или правое предсердие. Выход крови составляет 3—4% к живому весу животного. Крупный рогатый скот после оглушения с помощью лебедки поднимают на подъемный путь и подвешивают за задние конечности. Перед обескровливанием в месте соединения шеи с туловищем вдоль пищевода делают разрез длиной 30 – 50см. Пищевод отделяют от прилегающих тканей и перевязывают шпагатом или зажимают зажимом. Для технических целей перерезают сонные артерии и яремные вены у основания шеи. Продолжительность обескровливания – 6-8мин. . Вытекающую по специальным желобам кровь собирают в баки или другую емкость, затем направляют на переработку. **3) отд-е головы и конечностей** **4) забеловка** и съемка шкур. Снимают шкуру на специальных установках. Свиные туши в шкуре дополнительно подвергают шпарке в горячей воде для облегчения удаления щетины, далее свиные туши опаливают.**5) нутровка**, после этого идет веет. осмотр.**НУТРОВКА** - это извлечение из туши внутренних органов. Их удаляют не позднее чем через 45 мин. после обескровливания туши крупного рогатого скота и через 30 мин. из туш мелкого рогатого скота, так как в кишечнике животного содержится большое количество микрофлоры, которая быстро переходит на окружающие ткани. Почки остаются в туше.После удаления внутренних органов туши крупного рогатого скота и свиней распиливают на полутуши.При зачистке туш крупного рогатого скота извлекают спинной мозг, почки и окружающий их жир, срезают «бахрому», удаляют диафрагму. Кровоподтеки, патологически измененные ткани, остатки внутренних органов, механические загрязнения, хвост. При зачистке туш мелкого рогатого скота околопочечный жир и почки не вынимают. На свиных тушах сохраняют щековины, имеющие вид трапеции. После зачистки туши (полутуши) промывают изнутри (25-300С) чистой водой, удаляют кровь и содержимое желудочно-кишечного тракта. С наружной стороны обмывают только грязные туши**. 6) распиловка туш на полутуши 7) Заключительной операцией разделки является сухой и мокрый туалет, необходимый для придания мясу товарного вида**. Туалет заключается в удалении почек у говяжьих и свиных туш, хвоста, остатков диафрагмы —грудобрюшной перегородки — и извлечении спинного мозга. Кроме того, с туш срезают участки с кровоподтеками, побитостями, загрязнениями и удаляют бахромки мяса и жира. У свиных туш отделяют голову. Затем туши или полутуши моют теплой водой. Мокрый туалет способствует удалению с поверхности мяса загрязнений и значительной части микроорганизмов**. 8) опр-е упитанности**, клеймение, взвеш-е, передача на холод. хранение. Клеймят в зависимости от качества мяса. Если круг-первая категория, квадрат-вторая, треугольник для всех видов.

99.Технология обработки субпродуктов и эндокринно-ферментного сырья.

Субпродукты — это внутренние органы и части животного организма, получаемые при переработке крупного и мелкого рогатого скота и свиней. В зависимости от этого они по видам подразделяются на говяжьи, бараньи и свиные. По использованию различают пищевые и технические субпродукты. К пищевым продуктам относятся: голова и ее составные части, конечности, хвост, вымя, желудок, печень, легкие, сердце, почки, селезенка, диафрагма, гортань с глоткой, мясная обрезь. К техническим субпродуктам — части тела и органы животного, не имеющие пищевой ценности, такие, как рога и роговой стержень, кости головы, половые органы.

. Особенности строения субпродуктов учитывают при их обработке и для правильного проведения технологических процессов условно делят на 4 группы:

- мякотные — ливер (печень, сердце, легкие, диафрагма, трахея с горлом), почки, селезенка, мясная обрезь, вымя, язык и мозги;

- мясокостные — головы (без шкур) без языков и мозгов, с их составными частями: мышечной тканью, жиром, костями; мясокостные хвосты, цевки;

- слизистые (имеющие слизистую оболочку) — рубцы, книжки и сычуги крупного рогатого скота, рубцы мелкого рогатого скота и свиные желудки;

- шерстные — головы свиные, бараньи (в шкуре) без языков и мозгов, путовый сустав крупного рогатого скота, ножки свиные и бараньи, губы говяжьи, уши свиные и говяжьи, хвосты свиные.

**Обработка мякотных субпродуктов.**

Ливер (сердце, печень, легкие, диафрагма, трахея в их естественном соединении) промывают холодной водопроводной водой под душем или в моечном барабане непрерывного действия, затем навешивают за трахею на крючки, расположенные над столом, обезжиривают и разделяют на составные части, в первую очередь отделяя печень, затем легкие, сердце. Органы обрабатывают одновременно. Печень при обработке тщательно осматривают, так как в ней накапливаются зародыши глистов и микрофлора (при фильтрации крови в организме) и при наличии уплотнений или других патологических изменений ткани подвергают дополнительной обработке для удаления пораженных участков. Печень зачищают от пленок, лимфатических узлов, обезжиривают, промывают и отправляют в холодильник. С легких срезают жир и прирези мускульной ткани, разделяют на две части, промывают и отправляют в холодильник. С отделенного сердца обрезают жир, освобождают от сумки, разрезают, если это не было сделано в цехе убоя скота и разделки туш, основательно промывают и направляют в холодильник. С трахеи тщательно обрезают жир, отделяют диафрагму, промывают и направляют на охлаждение или в цех технических продуктов. Диафрагму вместе с мясной обрезью, получаемой при зачистке туш, обезжиривают, освобождают от посторонних тканей и загрязнений, промывают и также направляют на охлаждение. Селезенку обрезают и очищают от посторонних тканей. Для этого ее разрезают на две-три части, тщательно промывают (учитывая ее функции в организме животного) и направляют на охлаждение, если в дальнейшем она будет использована в колбасном производстве. Почки крупного рогатого скота и свиней освобождают от жировой капсулы (вместе с которой их отделяют от туши) и оболочки, очищают от кровеносных сосудов и мочеточников и направляют в холодильник. Вымя разрезают на несколько частей для лучшего удаления молока из выводных протоков во время промывки его под душем холодной водой или в ванне с проточной водопроводной водой. Промытое вымя подвешивают для стекания на крючки, затем удаляют ножом остатки шкуры (если они имеются), жир в виде широких полос, расположенных в нижней части вымени, и после просмотра для установления полного обезжиривания направляют на охлаждение. Языки поступают в субпродуктовый цех вместе с подъязычным мясом и калтыком и подвергаются промывке в перфорированных барабанах непрерывного действия или в чанах с проточной водой. Затем на столе отделяют калтык и подъязычное мясо, зачищают от пленок, обезжиривают и, уложив в вытянутом положении на противни, направляют в холодильник вместе с полученными при их обработке прирезями. Для использования языков в колбасном и консервном производствах с них снимают ороговевшую слизистую оболочку. При механизированной очистке языки промывают также в промывочных барабанах, а после отделения калтыка загружают по 50 кг в центрифугу (с частотой вращения 120–130 мин–1), куда подается вода температурой 70–80°С; говяжьи языки обрабатывают 3–4 мин, свиные – 1,5–2 мин, бараньи – 1–1,5 мин. Языки выгружают в холодную проточную воду, после этого срезают подъязычное мясо и направляют языки на охлаждение.

Мозги извлекают из черепной коробки, стараясь не повредить их. С них удаляют пленку и осторожно промывают под душем водой температурой 30–35°С от крови и посторонних веществ, сортируют и, уложив на противни, направляют на охлаждение.

**Обработка мясокостных субпродуктов**

Головы крупного рогатого скота после отделения от них ушей, языка и рогов в цехе убоя скота и разделки туш, тщательно промытые, поступают в субпродуктовый цех, где на стационарном или конвейерном столе у них отделают губы, извлекают глаза и подглазный жир; удаляют мясо с нижней челюсти, затем отделяют нижнюю челюсть специальной машине, на станке или ножом; вручную ножом зачищают концы нижней челюсти от остатков мяса; обваливают черепную коробку, срезают мясо с затылочной части головы, с правой и левой щек, с висков (вместе с жиром). После этого голову разрубают на специальной машине или вручную секачем так, чтобы сохранить целыми мозги, гипофиз и эпифиз, вынимаемые из разрубленной головы. Гипофиз и эпифиз, так же как и мозги, направляют в холодильник.

Кости головы промывают холодной водой под душем или из шланга и после стекания направляют для дальнейшего использования. Головы, предназначенные для реализации, не обваливают.

Мясокостные хвосты тщательно промывают водой температурой 30—40°С под душем или в моечном барабане, после этого удаляют остатки шкуры и волосы и, дав воде стечь в течение 20—30 мин, направляют на охлаждение.

Цевки крупного рогатого скота промывают во вращающемся промывном барабане в течение 10—15 мин водой при температуре 15—20°С или проточной водой в чане в течение 30 мин, после чего с них срезают остатки шкуры и отделяют ножом сухожилия (от сухожилий отделяют косточки).

От цевки отпиливают на циркульной пиле кулачки, которые вместе с цевочной костью направляют в цех пищевых жиров на вытопку из них жира. Сухожилия направляют по назначению: на производство желатина или в колбасное производство.

**Слизистые:** Многокамерные желудки КРС и МРС на столе нутровки разделяют на две части: рубец с сеткой и книжку с сычугом. Рубцы с сетками обезжиривают, освобождают от содержимого, промывают теплой водопроводной водой, охлаждают проточной холодной водой и проводят окончательное обезжиривание. Затем их подвергают шпарке водой температурой 65-68°С 6-7 минут, очищают от слизистой оболочки в центрифугах, охлаждают холодной водопроводной водой, зачищают от остатков слизистой оболочки и темных пятен. Аналогичным образом обрабатывают книжки и сычуги КРС, а также свиные желудки. После промывки сычугов и свиных желудков собирают слизистую оболочку, являющуюся эндокринно-ферментным сырьем.

**Шерстные**: От свиных голов отделяют уши, головы подвергают шпарке, очищают от щетины в скребмашине или вручную, опаливают с целью удаления остатков щетины, очищают в полировочной машине или вручную с одновременной промывкой теплой водопроводной водой, разрубают на две симметричные половины, не нарушая целостности мозга и гипофиза, извлекают мозги. У голов МРС отделяют рога, язык, проводят шпарку голов, очищают от шерсти и волоса, опаливают и выполняют заключительную очистку. В случае использования голов на выработку сухих животных кормов из них извлекают мозги. Губы говяжьи, ноги свиные, ноги и путовый сустав говяжьи, уши говяжьи и свиные, хвосты свиные подвергают шпарке, очищают от волоса, снимают копыта на копытосъемочной машине, опаливают, очищают от сгоревшего волоса и эпидермиса и сортируют раздельно по видам и наименованиям.

**Ветеринарно-санитарная экспертиза:** В цехах субпродуктов должны быть ветеринарные точки по контрольной экспертизе голов и ливеров. Все субпродукты необходимо подвергать своевременной обработке. Непременным условием их обработки является тщательная очистка и промывка чистой водой. Охлажденные субпродукты хранят не более 1 суток, для более длительного хранения их замораживают.

100.Созревание как естественная ферментация мяса. Способы ускорения созревания мяса.

Для ускорения процесса созревания мяса, а также с целью повышения нежности и уровня водосвязывающей способности сырья, содержащего грубые мышечные волокна, значительное количество соединительной ткани и имеющего жесткую консистенцию, в практике мясного производства используют различные способы, которые условно подразделяют на физические, химические, механические и биологические.

Физические способы

1. Воздействие на мясо повышенных температур при хранении. Применение повышенных температур среды при выдержке мяса позволяет существенно сократить период созревания. Ниже показана зависимость продолжительности созревания от температуры. Следует однако иметь в виду, что использование повышенных температур сопровождается вероятностью микробиологическои порчи сырья.

2. Воздействие на мясо высоких давлений (140-150 мПа) сопровождается распадом актомиозинового комплекса на актин и миозин по механизму, аналогичному с процессом разрешения посмертного окоченения, что обеспечивает повышение нежности мяса.

3. Воздействие на мясо ультразвуковой вибрации приводит к нарушению целостности как мышечных волокон, так и элементов соединительной ткани.

4. Воздействие на мясо импульсов переменного электрического тока дает возможность в значительной степени ускорить процесс созревания, уменьшить вероятность развития холодного сокращения мышц, повысить нежность и сортность мяса. Проведение электростимуляции непосредственно после закалывания обеспечивает более полное обескровливание мяса.

Осуществляют процесс путем накладывания электродов на различные части туши и подачи переменного тока напряжением от 40 до 2000 В импульсами, длительность которых 0.4 секунды с перерывами между ними 0,6 сек. Принцип электростимуляции основан на уменьшении запасов энергии в мышцах в виде АТФ посредством искусственно вызываемого сокращения мышц при воздействии электрических импульсов. При этом в 2-2.5 раза увеличивается скорость гликолиза, ускоряется начало наступления процесса окоченения, интенсифицируется ферментативный распад мышечных волокон. Механизм воздействия электрического тока на мышечную ткань после убоя заключается в том, что под влиянием электрических импульсов происходит расщепление АТФ. Благодаря быстрому снижению рН мяса при электростимуляции протеолитические ферменты активизируются при более высоких температурах туши, чем в обычных условиях. Активное сокращение мышц под действием электрических импульсов вызывает физическую деструкцию мышечных волокон, что позволяет получить выраженный эффект повышения нежности. Контролируют завершенность процесса электростимуляции по изменению рН. Наилучшая эффективность обработки — применение электростимуляции непосредственно после закалывания пока нервная система животного в состоянии воспринимать электрические импульсы и вызывать сокращение мышц. Использование электростимуляции позволяет сократить продолжительность созревания говядины при 0-2°С до 5-6 суток.

Химические способы Химические способы основаны на введении в мясо под давлением различных жидких и газообразных компонентов.

1. Введение в парное мясо методом шприцевания воды (при 38°С) в количестве 1-3 % к массе туши сопровождается повышением нежности мяса и увеличением уровня водосвязывающей способности в результате разрыва мышечных волокон.

2. Введение в парное мясо водных растворов хлорида натрия низких концентраций (около 0.9% МаСI) задерживает образование актомиозинового комплекса, тормозит развитие посмертного окоченения.

3. Введение в парное мясо водных растворов триполифосфатов и их смеси с хлоридом натрия способствует существенному повышению как нежности мяса, так и его водосвязывающей способности.

4. Введение в мышечную ткань газов (воздуха, смеси N2, СO2 и СО) под давлением 2,1\*10в5 Па обеспечивает повышение нежности и улучшает цвет сырья.

Механические способы Предназначены для обработки как парного, так и охлажденного низкосортного сырья и основаны на разрыхлении морфологических элементов мяса.

1. Накалывание и отбивание мяса на различного рода устройствах обеспечивает растяжение сокращающихся мышц, разрушение поверхностного слоя клеток, мембранных структур, разволокнение элементов мяса.

2. Массирование и тумблирование могут вызывать различную степень изменения свойств сырья. В начальных стадиях массирования и тумблирования основные изменения относятся к состоянию мышечной ткани: она разволокняется, идет разрушение мембран, набухание миофибриллярных белков, нарушение связей между актином и миозином. Нежность и водосвязывающая способность мяса на этой стадии повышается незначительно и технологический эффект похож на поверхностную тендеризацию. При увеличении продолжительности механической обработки мышечного волокна набухают по всей толщине куска с образованием мелкозернистой белковой массы в областях нарушений структуры мышечных волокон, водосвязывающая способность и нежность увеличиваются. Мясо с относительно мягкой консистенцией (свинина, птица) предпочтительно обрабатывать в массажерках, жесткое мяса (говядина, баранина) — в тумблерах, где более выражено проявляется эффект ударного воздействия. Эффективность массирования и тумблирования зависит от типа установки, конструкции емкости, частоты её вращения, объема загрузки, состояния и структуры сырья, размеров кусков и др. факторов. Под тумблированием понимают процесс обработки продукта в тумблерах -емкостях с горизонтальной осью вращения, имеющих выступы на внутренней их поверхности. При вращении емкости куски мяса трутся друг о друга, внутреннюю поверхность и выступы, участвующих в вращении. Продолжительность тумблирования может быть различной в зависимости от вида, состояния мяса, особенностей оборудования-тумблера. В большинстве случаев для кусков мяса небольших размеров (25-30 мм) она составляет 10-40 мин, для образцов больших размеров - 4-6 часов. Частота вращения 20-30 оборотов в минуту.

Массирование - это разновидность процесса перемешивания, которое производится в массажере. Массажер — представляет собой емкость, в которую после ее заполнения мясом опускается вертикальный вал с лопастями. Обработка в них протекает интенсивно, чем в тумблерах, поскольку отсутствуют ударные воздействия. Электромассирование мяса в парном состоянии — метод, заключается в воздействии электрических импульсов на предварительно инъецированное мясо в парном состоянии. Возникающие периодические сокращения и расслабления парных мышц влияют на процесс перераспределения посолочных веществ. К недостаткам механических способов обработки следует отнести большую вероятность микробиологической обсемененности и возможные потери при тепловой обработке.

Биологические способы

Основаны на обработке сырья протеолитическими ферментными препаратами микробного, растительного или животного происхождения, проявляющих активность в диапазоне рН среды 3,9-9,0. Действие ферментов основано на гидролизе пептидных связей мышечных белков, размягчении грубых волокон и соединительной ткани, что обеспечивает существенное повышение нежности мяса, улучшает органолептические показатели и увеличивает выход готовой продукции. Активность ферментов и полученный эффект тендеризации зависят от вида используемого сырья и препарата, температуры и рН среды, наличия солей, продолжительности воздействия, концентрации фермента. Максимальная активность проявляется у трипсина при рН 6.0, у химотрипсина при рН 7-9, у пепсина при рН=2,0. Увеличение температуры до 40-60°С резко активизирует деятельность ферментов растительного происхождения. Для ферментов животного и микробного происхождения оптимум действия 40-50°С. В зависимости от вида ферментов количество вводимых препаратов составляет 0,0005-0,002% к массе мяса. Вводят ферменты путем инъецирования растворов, содержащих их, в мясо; посредством погружения сырья в растворы фермента; напылением в виде аэрозоля на поверхность, либо путем непосредственного добавления его в мясо. При этом главная задача — добиться равномерного распределения фермента в сырье. В промышленности наиболее распространено использование трипсина, имеющего высокую протеолетическую активность к мышечным белкам и папаина, способного вызывать деструкцию соединительной ткани.

101.Производство колбасных изделий и их классификация.

1. Варёная - колбаса подвергнутая обжарке с последующей варкой.

2. Фаршированная - колбаса с ручной формовкой особого рисунка, обёрнутая в слоёный шпик и вложенная в оболочку.

3. Сосиски и сардельки - небольшие варёные колбаски диаметром от 14-32 и 32-44 мм и длиной 12-13, 7-9 см соответс­твенно.

4. Полукопчёная - колбаса, в процессе изготовления под­вергнутая после обжарки и варки дополнительно горячему копчению и сушке.

5. Сырокопченая - колбаса, в процессе изготовления подвергнутая после осадки холодному копчению, минуя процесс варки, затем продолжительной сушки.

6. Варёно-копчёная - отличается от полукопченой режимами сушки.

7. Ливерная - колбаса, приготовленная в основном из варёного сырья, иногда частично или полностью из сырого, с последующей варкой и охлаждением.

8. Кровяная (хлеб, зельц) - вырабатывается с прибавлением к фаршу пищевой крови.

9. Мясной хлеб - изготавливается из колбасного фарш без оболочки, запеченного в металлической форме.

10. Паштет - изделие мазеобразной консистенции из фарша, приготовленного в основном из вареного сырья, иногда частично или полностью из сырья, с добавлением жира, запеченного в мета­ллической форме.

11. Зельц - изделие в оболочке или без неё, имеющее преи­мущественно овальную форму спрессованную с обеих сторон, изго­товленное из измельченного вареного сырья богатого коллагеном.

12. Студень - изделие, застывающее при охлаждении в фор­мах, изготовленное из вареного измельченного сырья, богатого коллагеном, с добавлением специй и концентрированного бульона.

13. Копчености.

При степени измельчения 2-3 мм- 6-12ч, 16-25 мм-24ч, 1-2 суток для полукопчённых.

При посоле кусков до 48 часов для полу копчёных, сырокопчёных до 5 суток.

После посола для получения колбас более нежной консистенции более монолитного фарша мясо вторично измельчает на различных машинах.

При производстве варёных колбас сосисок мясо перемешивает на куторе, если оно хорошо измельчено на волчке.

Наиболее распространены волчки с решеткой 220мм.

При измельчении на волчке разрушается мышечная ткань, изменяется консистенция жира; сырье не только разрезается, но подвергается смятию и перетиранию. Вследствие этого температура повышается, что может ухудшить качество фарша (температура фарша не должна быть выше 8-10 оС).

Мясо с большим содержанием соединительной ткани, свиную шкурку и сухожилия измельчают на коллоидных мельницах. Перед загрузкой в коллоидную мельницу мясо измельчают на волчке с диаметром отверстий решетки 3 мм и добавляют не менее 30% воды.

В фарш некоторых колбас добавляют кусочки шпика, форма и размер которых указаны в рецептуре. Шпик используют как в свежем виде, так и соленый. Подготовка шпика включает удаление шкурки, зачистку от соли, загрязнений и измельчение на кусочки определенной формы и размеров.

Тонкое измельчение мяса проводят в куперах. Сырье перед куттерованием предварительно измельчают на волчке либо загружают крупнокусковое замороженное сырье, а в некоторых случаях его измельчают и смешивают с компонентами. От правильного куттерования зависят структура и консистенция фарша, появление отеков бульона и жира, а также выход готовой продукции. Это одна из важнейших операций при производстве вареных колбас, сосисок, сарделек, мясных хлебов и ливерных колбас. Куттерование обеспечивает не только должную степень измельчения мяса, но и связывание добавляемой воды или льда в количестве, необходимом для получения высококачественного продукта при стандартном содержании влаги. Продолжительность куттерования существенно влияет на качество фарша. При обработке мяса на куттере в течение первых 3-4 мин происходит механическое разрушение тканей, значительно увеличивается поверхность кусочков мяса, после чего начинается набухание белков связывание ими добавляемой воды и образование вязкопластичной структуры. Куттерование длится 8-12 мин в зависимости от конструктивных особенностей куттера, формы ножей, скорости их вращения. Оптимальной продолжительностью куттерования считается такая, когда такие показатели, как липкость, водосвязывающая способность фарша, консистенция и выход готовых колбас, достигают максимума.

При куттеровании фарш нагревается и его температура поднимается до 17-20 °С. С целью предотвращения перегрева фарша в кутгер добавляют холодную воду или лед в начале куттерования в таком количестве, чтобы поддерживать температуру 12-15 °С. Количество воды или льда зависит от вида куттеруемого сырья: чем выше содержание жировой ткани, тем меньше надо воды или льда. Излишнее количество влаги в фарше приводит к образованию бульонно-жировых отеков в процессе термообработки, недостаточное количество — к получению готового продукта с грубой «песочной» консистенцией. Количество добавляемой воды или льда при получении вареных колбас, сосисок и сарделек составляет 10-40% массы куттеруемого сырья.

При измельчении разных видов сырья в куттер вначале загружают говядину или нежирную свинину, затем — полужирную и жирную свинину, шпик загружают в конце куттерования. Воду добавляют при куттеровании говядины и нежирной свинины.

При измельчении сырья на вакуумных куттерах получаются фарш и готовые изделия более высокого качества. Это связано с тем, что в процессе куттерования при высокой скорости вращения ножей в фарш попадает большое количество воздуха. В условиях вакуума аэрации фарша не происходит, улучшаются консистенция фарша, окраска, повышается выход готовой продукции, сокращаются число и размер микропор, увеличивается степень измельчения волокон, что приводит к повышению водосвязывающей способности и липкости фарша, увеличению плотности колбас, тормозятся окислительные процессы. Оптимальное остаточное давление, обеспечивающее высокое качество и выход продукта составляет 0,25 \* 10 Па.

Фарш составляют по рецептуре,чтобы фарш было равномерной консистенции,его необходимо перемешивать.

Кусочки шпика грудинки должны сохранять свою форму после перемешивания.

Структурно однородный фарш без шпика смешивают в куторе измельчение сырья.

Последовательность:1) загрузка говядины,свинина нежирная.2) лёд, вода.3) специи,мука, крахмал.4) жирная свинина,жир.

Неоднородные фарш со шпиком смешивают в мешалках( лопастные механические).

Фарш для бесшпиковых вареных колбас, сосисок и сарделек составляют в куттерах при измельчении. При использовании машин тонкого измельчения в производстве бесшпиковых колбас компоненты предварительно перемешивают в куттере или мешалке. Неоднородный фарш, содержащий кусочки шпика или крупноизмельченные куски мяса,. составляют в мешалках. При составлении фарша в куттер вначале загружают говядину и нежирную свинину, затем — небольшими порциями холодную воду или лед (внесение большого количества воды снижает эффективность измельчения). Если мясное сырье не было засолено, то в начальный период куттерования добавляют соль. На начальной стадии куттерования вносят фосфаты, увеличивающие водосвязывающую способность мяса. После тщательного измельчения нежирного сырья добавляют специи, крахмал, сухое молоко. В конце в куттер загружают жирную свинину или жир. Если при посоле мяса не вносили нитрит, то его 2,5%-ный раствор разливают по поверхности фарша.

При использовании мешалок для приготовления фарша загружают говядину и нежирную свинину, затем при необходимости — холодную воду или лед, специи и раствор нитрита натрия. Жирную свинину и шпик загружают в последнюю очередь. После добавления шпика фарш перемешивают 2-3 мин. Продолжительность перемешивания зависит от конструкции мешалки и свойств фарша. Так, фарш вареных колбас перемешивают 20 мин. Самым лучшим качеством отличаются вареные колбасы, фарши которых составляют в вакуумных машинах; в этом случае продолжительность перемешивания сокращается. Фарш мясных хлебов составляют так же, как фарш вареных колбас, но воды при куттеровании вносят в несколько меньшем количестве. Фарш для полукопченых, варено- копченых и сырокопченых колбас готовят двумя способами: перед приготовлением фарша выдержанное в посоле мясное сырье измельчают на волчке с диаметром отверстий решетки 2-3 мм. Полужирную и жирную свинину, грудинку И шпик измельчают до размеров, предусмотренных рецептурой. Измельченную говядину перемешивают со специями 5-7 мин, добавляют нежирную свинину, полужирное мясо, грудинку, шпик, говяжий или бараний жир. Перемешивание длится 6-10 мин; жилованное мясо в кусках, полосы шпика и грудинки замораживают при толщине слоя не более 10 см до —5-1 °С (мясные замороженные блоки отепляют до этой температуры). Фарш готовят на куттерах, предназначенных для измельчения замороженного мяса. После измельчения крупных кусков говядины, баранины через 30-90 с загружают нежирную свинину, поваренную соль, специи, раствор нитрита натрия, через 1-2 мин — полужирную и жирную свинину, шпик, грудинку, бараний жир и измельчают еще 30-90 с. Общая продолжительность измельчения и перемешивания 2-5 мин. Температура фарша после куттерования —3-1 °С.

Фарш ливерных колбас и паштетов готовят холодным и горячим способами. При холодном способе вареное и бланшированное сырье охлаждают до 8-10 °С, измельчают на волчке с диаметром отверстий решетки 2-3 мм, затем обрабатывают в куттере в течение 6-8 мин до мазеобразной консистенции. Температуру фарша поддерживают не выше 12 °С. При горячем способе сырье после варки и бланшировки направляют на измельчение горячим. В этом случае используют куттеры с паровыми рубашками и поддерживают температуру фарша не ниже 50 °С.

Для получения кровяных колбас и зельцев предварительно бланшированное или вареное сырье измельчают на волчке с диаметром отверстий решетки 2-3 мм, затем — в куттере, добавляя специи и сырую или вареную кровь. Фарш перемешивают со шпиком, шековиной и другими компонентами согласно рецептуре в мешалках.

**Шприцевание и формовка.**

Готовый фарш направляют для изготовления батонов.

Шприцевание (т.е. наполнение колбасной оболочки фаршем) осуществляется под давлением в специальных машинах — шприцах. В процессе шприцевания должны сохраняться качество и структура фарша. Плотность набивки фарша в оболочку регулируется в зависимости от вида колбасных изделий, массовой доли влаги и вида оболочки. Фаршем вареных колбас оболочки наполняют наименее плотно, иначе во время варки вследствие объемного расширения фарша оболочка может разорваться. Копченые и сырокопченые колбасы шприцуют наиболее плотно, так как объем батонов сильно уменьшается при сушке.

Шприцы -машины по принципу насосов непрерывного и периодического действия.

Периодического действия: механические, гидравлические.

Оболочки наполняют фаршем через цевки на которые натягивается оболочки.

Цевки- металлические трубки.

Варёная колбаса шприцуют с наименьшей плотностью.

После вязки перекручивания батона навешиваются на тележки, высушиваются.

Фарш вареных колбас на пневматических шприцах рекомендуется шприцевать при давлении 0,4-0,5 МПа, на гидравлических— при 0,8-1,0 МПа, фарш сосисок и сарделек при 0,4-0,8 МПа, полукопченых колбас — 0,5-1,2 МПа. Фарш сырокопченых и варено-копченых колбас шприцуют на гидравлических шприцах при 1,3 МПа.

Для обнаружения металлических примесей, которые могут попасть в фарш, на патрубке шприца следует установить сигнализаторы.

Для уплотнения, повышения механической прочности и товарной отметки колбасные батоны после шприцевания перевязывают шпагатом по специальным утвержденным схемам вязки. При выпуске батонов в искусственных оболочках, где напечатаны наименование и сорт колбасы, поперечные перевязки можно не делать.

После вязки батонов для удаления воздуха, попавшего в фарш при его обработке, оболочки прокалывают в нескольких местах (штрикуют) на концах и вдоль батона специальной металлической штриковкой, имеющей 4 или 5 тонких игл. Батоны в целлофане не штрикуют.

**Осадка колбасных изделий.**

Осадка -это первая операция завершающего этапа термической обработки колбасных изделий.

В зависимости от вида колбасных изделий осадка делятся на кратковременную и длительную.

Кратковременные: 2ч варёная колбаса сосиски, полукопчёная 46 часов, варёно-копчёная 24-48 часов.

Длительное сырокопченые сыровяленые 5-7 суток.

После осадки колбасы обжариваются уменьшается количество влаги уменьшается, количество сажи.

При кратковременном: происходит уплотнение фарша подсушивание оболочек происходят развитие реакций связанных со стабилизацией окраски.

Осадка. Операция осадки (выдержки) фарша после формования батона предусматривается для всех видов колбасных изделий, кроме ливерных колбас. Продолжительность осадки зависит от вида колбас.

Кратковременную осадку проводят при получении вареных и полукопченых колбас, она длится 2-4 ч. На большинстве предприятий осадку вареных и полукопченых колбас проводят по пути их прохождения из шприцовочного отделения в обжарочное при температуре в помещении не выше 12 С. В процессе осадки восстанавливаются химические связи между составными частями фарша, разрушенные при измельчении и шприцевании, увеличивается доля прочнесвязанной влаги. Фарш уплотняется и становится монолитным, а готовый продукт получается более сочным, с лучшей консистенцией. Одновременно происходят реакции, стабилизирующие окраску фарша в результате действия нитрита натрия, Оболочка подсушивается испаряется некоторое количество избыточной влаги.

Длительную осадку (5-7 сут) применяют при изготовлении сырокопченых и сыровяленых колбас, а также полукопченых (1 сут) и варено-копченых (4 сут) колбас, изготовленных из подмороженного мяса. При длительной выдержке между элементами разрушенной системы мышечных волокон возникают достаточно прочные химические связи, способствующие образованию вторичной структуры. В сырье протекают ферментативные процессы, вызываемые жизнедеятельностью микроорганизмов и активизацией ферментов мышечной ткани, т. е. мясо созревает. Испаряется свободная влага. В результате осадки улучшаются консистенция, запах, цвет и вкус колбасных изделий.

Длительную осадку производят в специальных камерах, где поддерживают относительную влажность воздуха 85—90% и температуру 4-8 или 2-4 °С в зависимости от вида колбас и технологии. Осадочные камеры оборудованы подвесными путями. Для создания необходимого микроклимата используют пристенные батареи и воздухоохладители.

При осуществлении осадки следует иметь в виду, что излишнее подсушивание оболочки может привести к образованию корочки под оболочкой и морщинистости.

**Виды и режимы тепловой обработки мясопродуктов.(?)**

1. Варка, осуществляемая в воде или на пару. При варке к мясу добавляются различные овощи и приправы для усиления вкуса.

2. Жарка.

3. Запекание. Может производиться как в фольге, листьях растений, так и в специальной посуде.

4. Тушение – в большинстве своих вариантов самая трудоёмкая тепловая обработка мяса.

5. Гриль. Это и обожаемые многими шашлыки, и куры-гриль, и шаурма – всё, что готовится на открытом огне.

**Сушка** является завершающим этапом технологического цикла производства сырокопченых, сыровяленых, варено-копченых колбас и соленокопченых изделий из свинины. Цель сушки - путем понижения влажности и увеличения относительного содержания поваренной соли и коптильных веществ в мясопродуктах повысить их устойчивость к действию гнилостной микрофлоры. Кроме того, увеличивается содержание сухих питательных веществ в единице массы готового продукта, улучшаются условия его хранения и транспортирования.

Если при обезвоживании варено-копченых колбас процесс не осложняется какими- либо сопутствующими явлениями, кроме некоторых потерь коптильных веществ во внешнюю среду, то при всей кажущейся внешней простоте сушка сырых (сырокопченых, сыровяленых) колбасных изделий относится к числу наиболее сложных технологических процессов. На протяжении почти всего периода 'сушки в продукте происходят сложные физико-химические и биохимические изменения, вызываемые тканевыми ферментами и микроорганизмами (созревание колбас). При этом наблюдается разрушение первоначальной клеточной структуры мышечной ткани и образование однородной, монолитной структуры, присущей готовому изделию.

Деятельность ферментов и развитие микрофлоры тесно связаны с наличием достаточного количества влаги и с концентрацией в ней электролитов (хлорида натрия). Поэтому развитие деструкции, структурообразования и общее состояние микрофлоры (в частности, степень отмирания нежелательных бактерий) главным образом зависят от хода обезвоживания продукта, т. е. его интенсивности и распределения влажности внутри батона. В свою очередь, характер развития структурообразования и связанные с этим величина усадки и изменение влагопроводности материала существенно влияют на интенсивность внутреннего переноса влаги. При относительно больших размерах высушиваемого колбасного батона это влияние приобретает значение решающего фактора, определяющего возможности интенсификаци и процесса сушки.

**Охлаждение колбасных изделий.**

Для снижения потерь массы, предотвращения порчи и сохранения надлежащего товарного вида после тепловой обработки колбасные изделия охлаждают на воздухе или холодной водой. Применяют двухстадийную холодную обработку: вначале холодной водой, а затем в камерах воздушного охлаждения. При охлаждении водой сокращается продолжительность процесса в результате повышения коэффициента теплоотдачи. При этом наиболее благоприятный для развития оставшейся микрофлоры диапазон температур в центре мясопродуктов 30 - 35°С, процесс протекает быстрее. Потери массы вследствие испарения уменьшаются примерно в 8 раз. Одновременно при охлаждении водой с поверхности батонов смываются жировые подтеки, остатки бульона и другие загрязнения, предотвращается морщинистость оболочки.

На первой стадии изделия охлаждают под душем водопроводной водой температурой

10- 15'С в течение 10 - 30 мин или путем интенсивного орошения из форсунок в течение

5 - 15 мин (в зависимости от диаметра батона). Охлаждение проводят до температуры в центре батона 27 - 30'С, так как при последующем охлаждении водой поверхность продукта не успевает просохнуть и возможна быстрая микробиальная порча увлажненных колбас.

После охлаждения водой колбасные изделия на этих же рамах направляют в камеры охлаждения, где поддерживают температуру воздуха 4'С и относительную влажность около

95%. Продолжительность этой стадии охлаждения от 4 до 8 ч. К концу охлаждения температура изделий должна достигать 8 - 15'С. Охлаждать до более низкой температуры колбасы не рекомендуется, так как при последующем транспортировании и реализации они могут увлажняться в результате конденсации влаги на их поверхности. В этом случае колбасная оболочка тускнеет, внешний вид изделий ухудшается и создаются благоприятные условия для развития плесени.

Колбасы в целлофановой оболочке под душем не охлаждают.

Процессы обжарки, варки и охлаждения могут осуществляться в раздельных камерах или агрегатах. Предпочтительнее использовать либо универсальные камеры периодического действия, в которых последовательно проводят процессы обжарки, варки и охлаждения, либо термоагрегаты непрерывного действия. Достоинство универсальных камер заключается в возможности варьировать длительность тепловой обработки, их можно использовать при выработке широкого ассортимента изделий в случае ограниченного объема производства. Применение универсальных камер способствует снижению трудовых затрат, потерь массы продукта, улучшению его качества и повышению производительности труда.

**Производство ливерных колбасных изделий, студней, зельцев**.(?)

К ливерным колбасам относят изделия, изготовленные из несоленых вареных мясопродуктов. Для изготовления ливерных колбас используют сырье, не пригодное по структуре для выработки вареной колбасы (печень, легкие, рубец), а также коллагенсодержащее сырье, получаемое при обвалке и жиловке мяса, требующее длительного разваривания.

В фарш ливерной колбасы добавляют жир для придания мажущейся консистенции и повышения питательности, а также клейдающие компоненты для придания необходимой вязкости.

Сырье подвергают варке в течение 2 часов в кипящей воде. Для получения . доброкачественной ливерной колбасы процесс производства необходимо вести при температуре, препятствующей развитию бактерий. Такой температурой является «холодная» в пределах 0...10°С или «горячая» в пределах 50.. .60°С и выше.

Сваренное сырье в горячем виде, без охлаждения, направляют на измельчение в волчках, куттерование, набивку в оболочку и варку.

В куттер прибавляют горячий упаренный бульон, нагретый до

85...90°С. Фарш не должен охлаждаться ниже 50°С. Шприцованные колбасы немедленно передают на варку.

После варки колбасу охлаждают под душем или погружением в холодную воду со льдом на 25...30 минут, окончательное охлаждение до 6°С проводят в камере с температурой 0.. ,2°С.

Сроки реализации ливерных колбас 12.. .48 часов.

Полностью разваривают клейдающие субпродукты в течение 5...6 часов при температуре 95°С. Неклейдающие субпродукты кипятят 2...3 часа, нарезают и смешивают с бульоном клейдающих.

Смесь повторно варят 40...60 минут при температуре 90°С, разливают в тазики и охлаждают при 3.. .4°С.

Содержание влаги в студнях не нормируется. Содержание соли -

1,8...2,2 %. Толщина слоя не должна превышать 70 мм. Сроки хранения студня по окончании технологического процесса, включая транспортировку и реализацию, при температуре не ниже 0°С и не выше 6°С - не более 12 часов.

К зельцам относят изделия, приготовленные преимущественно с применением мяса свиных голов, клейдающих продуктов и крови.

Зельцы отличаются от обычных колбас тем, что имеют овальную форму, спрессованную с обеих сторон, отличаются характерным вкусом и содержанием фарша.

Для придания клейкости в фарш зельцев вводят клейдающие продукты (шкуру свиную, путовый сустав, свиные ножки и другие продукты, содержащие коллаген).

Для повышения усвояемости зельцы подвергают длительной варке, в результате чего коллаген растворяется, а при понижении температуры застывает. Бульон, полученный при варке, упаривают 2 часа. Мясо свиных голов, рубец и другие продукты отваривают в течение 2...5 часов, охлаждают, нарезают на кубики установленного размера и смешивают вместе с мелко измельченными клейдающими продуктами, бульоном и специями. Фаршем наполняют пузырь и варят. Признак готовности зельца -появление светлого бульона при накалывании пузыря и температура в толще не менее 72 °С. Все зельцы прессуют и при этом охлаждают. Деликатесный, красный, русский, белый зельцы выпускают в реализацию с температурой не выше 10°С. Срок реализации - 24 часа, а для белого зельца - 12 часов.

102.Характеристика водного компонента мяса и факторы, влияющие на его влагосвязывающую способность.

Вода не только является преобладающим компонентом всех пищевых продуктов, но и оказывает существенное влияние на такие качественные характеристики готовых мясных изделий, как консистенция, структура, устойчивость при хранении, а также выход. Для оценки состояния воды в пищевых продуктах в настоящее время широко используются показатели водосвязывающей способности и активности воды.

Воду, содержащуюся в пищевых продуктах, как правило, разделяют в зависимости от форм ее связи с белками на три группы: гидратационная, иммобилизованная и свободная.

Гидратационная вода (около 5% от общего ее содержания), как показывают спектры ядерно-магнитного резонанса, имеет структуру «водородных мостиковых соединений». По физическим свойствам она отличается от иммобилизованной и свободной воды более низкой температурой замерзания, большей плотностью, меньшим давлением па ров и способностью к растворению различных соединений. Гидратационная вода связана электростатически с диссоциированными группами боковых цепей белка (карбоксильными, гидроксильными, сульфгидрильными и аминогруппами), водородными связями с недиссоциированными полярными группами (карбоксильными и аминогруппами пептидных связей) и формирует мономолекулярный слой на их поверхности.

Иммобилизованная вода, составляющая наибольшую часть общего ее содержания, связана сорбционными и ван-дер-ваальсовыми силами в виде мультимолекулярных слоев с мышечными мембранами и филаментами. По физическим свойствам она отличается от гидратационной и образует «льдоподобную» структуру между белковыми молекулами. Количество иммобилизованной воды зависит от пространственной структуры белков, которая расширяется или сжимается в зависимости от притяжения или отталкивания заряженных боковых групп молекул белка. Увеличение расстояния между ними при повышении заряда белковой сетки и разрыве поперечных связей приводит к росту количества иммобилизованной воды, а ассоциация молекул, наоборот, сопровождается его уменьшением.

Третья группа - это свободная вода, молекулы которой за счет водородных связей организованы в виде «роя» (кластера), постоянно то разрушающегося, то образующегося вновь. Таким образом, у свободной воды есть «промежуточное» состояние между отдельными молекулами и решеткообразной структурой льда. Время жизни таких кластеров очень незначительно, и при повышении температуры оно уменьшается. Так, при отрицательных температурах молекулы свободной воды соединены водородными связями на 100%, при 6 °С - на 52, а при 34 °С - на 45%. Свободная вода удерживается в мясе силами капиллярного взаимодействия и является постоянным депо для пополнения количества иммобилизованной воды.

Водосвязывающая способность мяса существенно зависит от количества и степени связи с белком иммобилизованной и свободной воды. Водосвязывающая способность определяется рядом факторов: возрастом животного, количественным соотношением влаги и жира, глубиной автолиза мяса, условиями замораживания, величиной рН, количеством белков, их составом и свойствами, в том числе содержанием и степенью растворимости миофибриллярных и фибриллярных белков, обладающих резко выраженной способностью к набуханию.

Наибольшее практическое значение имеет водосвязывающая способность мышечной и соединительной тканей, так как эта влага является преобладающим компонентом мяса. Основная часть воды мышечной ткани (около 90%) содержится в волокнах, причем ее больше в составе миофибрилл и меньше - в саркоплазме. Водосвязывающая способность мышечной ткани определяется в первую очередь свойствами и состоянием белков миофибрилл (актина, миозина и актомиозина). В составе соединительной ткани воды меньше, в основном она связана с коллагеном.

Формы и прочность связи воды с мясом различны. Различают адсорбционную, осмотическую и капиллярную влагу.

*Адсорбционная влага*- это часть влаги, которая находится в мясе в наиболее прочно связанном состоянии, удерживаемом за счет сил адсорбции, главным образом белками. Диполи воды фиксируются гидрофильными центрами белков. Число заряженных групп белка в зависимости от условий может меняться вплоть до нуля в изоэлектрической точке.

Водосвязывающая способность белков тем выше, чем больше интервал между величиной рН среды и изоэлектрической точкой, т.е. чем больше групп СООН и NH2 будет ионизировано и заряжено. Так, если животное перед убоем было подвергнуто стрессу, то автолитические процессы в мясе протекают интенсивнее и величина рН резко сдвигается в кислую сторону в течение 1 ч и приближается к изоэлектрической точке. Такое мясо теряет много сока и обладает пониженной гидратацией. Туша становится особенно водянистой при рН 5,2-5,5. Число не- I ионизированных полярных групп, способных удерживать воду, обычно остается неизменным, благодаря чему сохраняется способность белка связывать некоторое количество воды и в изоэлектрической точке.

Число групп, фиксирующих влагу благодаря адсорбции, зависит и от взаимодействия белков друг с другом, при котором происходят взаимная блокировка активных групп и уменьшение адсорбции. Такое взаимодействие наблюдается, например, при автолизе в процессе развития посмертного окоченения, что связано с образованием актомиозина из актина и миозина. Большое значение для водосвязывающей способности белков имеет концентрация электролитов в саркоплазме клеток, так как от нее зависит степень ионизации белков.

Следовательно, помимо природных свойств белков на количество удерживаемой ими адсорбционной влаги влияют те факторы, которые изменяют число гидрофильных групп белка: интервал между рН среды и изоэлектрической точкой, свойства и концентрация электролитов, взаимодействие белков друг с другом в силу особых условий. Известное значение имеет температура (ниже температуры денатурации), с повышением которой усиливается разбрасывающее тепловое движение диполей воды и уменьшается общая толщина адсорбционного слоя.

*Осмотическая влага*удерживается в ненарушенных клетках за счет разности осмотического давления по обе стороны клеточных оболочек (полупроницаемых мембран) и внутриклеточных мембран. В межклеточных пространствах, так же как и в тканях с неклеточной структурой, роль полупроницаемой перегородки выполняет структура каркаса белковых гелей, в ячейках которого удерживается вода. Кроме того, более высокое осмотическое давление и увеличение количества осмотически связанной воды возникают в зависимости от концентрации ионов электролитов вблизи полярных групп белка. Таким образом, содержание осмотической влаги в мясе тем выше, чем больше остается неразрушенных полупроницаемых мембран или структурных образований, выполняющих их роль. Она частично выходит из мяса при погружении его в раствор с более высоким осмотическим давлением (посол), при тепловой денатурации белков. Количество осмотической влаги влияет на упругие свойства тканей.

*Капиллярная влага*заполняет поры и капилляры мяса и фарша. Количество капиллярной влаги зависит от степени развития капиллярной сети в структуре материала. В мясе роль капилляров выполняют кровеносные и лимфатические сосуды. Капиллярная влага влияет на объем и сочность продукта. Чем больше величина капиллярного давления, тем прочнее капиллярная влага связана с материалом. Капиллярное давление, в свою очередь, определяется размером капилляров. Чем меньше диаметр капилляров и микрокапилляров, тем больше капиллярное давление и тем прочнее удерживается вода.

Даже в границах одной формы связи влаги ее прочность и влияние на свойства тканей неодинаковы. В технологической практике влагу по форме ее связи с мясом часто упрощенно разделяют на прочно-связанную, слабосвязанную полезную и слабосвязанную избыточную. К влаге, прочно связанной с продуктом, относят в основном адсорбционную влагу микрокапилляров, а также часть осмотической. Слабосвязанная полезная влага размягчает (пластифицирует) продукт, создавая благоприятную консистенцию и способствуя усвоению пищи. Слабосвязанная избыточная влага - это та ее часть, которая может отделяться в процессе технологической обработки в виде бульона при варке колбас или в составе мясного сока при размораживании. При изготовлении колбас прочносвязанная влага должна составлять примерно 1/3 всей жидкости. В этом случае продукт имеет хорошую консистенцию и выход. При изготовлении колбасы, например, из длительно хранившегося мороженого мяса часть влаги представлена в виде слабосвязанной избыточной, и в этом случае консистенция продукта будет хуже (наблюдается отделение бульона), а выход продукта меньше. Если прочносвязанная влага составляет более 1/3, то продукт получается чрезвычайно твердым.

Чем больше прочносвязанной влаги, тем меньше испарение. Так, при обжарке колбас потери за счет испарения могут составлять от 7 до 8%. При сушке желательно, чтобы прочносвязанной влаги было меньше.

Влиять на количество разных форм влаги в мясе можно, изменяя условия, в частности его рН и изоэлектрическую точку.

Водосвязывающая способность мяса определяет его качество при технологической и кулинарной обработке. Известно, что выход вареных колбас в значительной мере определяется водосвязывающей способностью мяса. Из мяса с небольшой водосвязывающей способностью трудно приготовить высококачественную продукцию, так как при обработке велики потери влаги и соответственно растворимых в ней веществ. Вследствие этого быстрое определение водосвязывающей способности сырья очень важно в практике работы мясоперерабатывающих предприятий.

Представление о состоянии влаги в мясе может быть получено путем отделения свободной влаги методом прессования или центрифугирования. Количество связанной влаги *Х1 (%*к массе мяса) вычисляют по формуле:

*X1 = (А -*8,4Б) 100/m0,

а содержание связанной влаги *Х2,*(% к общей влаге) определяют по формуле:

Х2 = (А-8,4Б)100/А, где *А*- общее содержание влаги в навеске, мг; *Б -*площадь влажного пятна, см;

*т0-*масса навески мяса, мг.

Мясо с нормальными свойствами (NOR) в первые часы после убоя независимо от исходной величины рН обладает высокой водосвязывающей способностью и хорошими технологическими свойствами. Длительность послеубойного хранения мясного сырья различно влияет на качество мяса с низким и высоким значениями рН и на формы связи воды, прежде всего на состояние иммобилизован ной влаги. Наибольшей способностью к ее удерживанию обладает свинина в первые часы и через 48 ч после убоя. Состояние миофибриллярных белков мяса в процессе посола определяют нежность, сочность и выход готовых продуктов. При продолжительной механической обработке мясного сырья вначале происходит разрыхление структуры белков соленого мяса, что улучшает технологические показатели, затем наблюдается разрушение сетки мембран и филаментов, что влечет за собой уплотнение структуры мясного сырья и снижение технологических показателей.

Учитывая особенности исходного сырья, изменение его качественных характеристик в процессе хранения, посола и механических воздействий, необходимо использовать такие способы, режимы подготовки и обработки сырья, которые будут способствовать сохранению его высокой водосвязывающей способности и получению высококачественных продуктов. Так, например, основным требованием при изготовлении вареных колбасных изделий является диспергированное состояние компонентов фарша и связанное состояние влаги и жира в течение всего технологического процесса. Поэтому качество и выход вареных колбасных изделий определяются оптимальным развитием процессов водо- и жиросвязывания при приготовлении фарша и его устойчивостью при термической обработке. Водосвязывающая способность является одним из важнейших показателей сырого фарша вареных колбасных изделий. В результате происходящих в процессе термической обработки физико-химических, коллоидно-химических изменений части воды и жира, связанные в сыром фарше, отделяются в виде потерь массы или бульонных и жировых отеков. Количество оставшихся в составе фарша удержанных влаги и жира характеризует его водосвязы-вающую и жироудерживающую способности, которые рассчитываются как разность между содержанием влаги и жира соответственно в фарше и количеством влаги и жира, отделившихся в процессе термической обработки.

Стабильность, или устойчивость, фарша является обобщающим показателем, характеризующим развитие как водосвязывающей способности сырого фарша, так и водо- и жироудерживающей способности термообработанного фарша и выражается в виде отношения связанного в процессе термической обработки фарша количества влаги и жира к массе сырого фарша, взятого на исследование.

По одной навеске исследуемого продукта можно определить водо- (ВУС) и жироудерживающую (ЖУС) способности и устойчивость фарша (УФ), которые рассчитывают по формулам:

ВУС*= (*Bm1M1-Mm2*)*100; ЖУС = (Жm1M1-Mm3)100;

УФ= [(m-M)/m1]·100

где В - содержание влаги в фарше, %;

Ж - содержание жира в фарше, *%;*

*М -*масса всего отделившегося бульона с жиром, г;

M1 - масса исследуемого бульона с жиром, г;

m1 - масса навески фарша, г;

m2 - масса воды в исследуемом бульоне, г;

m3 - масса жира в исследуемом бульоне, г.

В практических целях для характеристики состояния влаги в мясе и мясных продуктах наряду с традиционными показателями водосвязывающей способности принят показатель активности воды.

103.Классификация, подготовка и применение колбасных оболочек.

Натуральные – производятся из кишечника и других субпродуктов;

искусственные колбасные оболочки – изготавливаются промышленным способом из натурального сырья;

синтетические – на основе искусственных материалов.

Подготовка натуральных (кишечных) оболочек.

Кишки-фабрикат (консервированные поваренной солью) освобождают от соли путем промывания в воде с темпера 15-20°С, затем их замачивают в воде с температурой 20-25 °С для придания стенкам эластичности. После замачивания кишки промывают и проливают теплой водой (30-35 °С).

Сухие мочевые пузыри (говяжьи и свиные) замачивают в теплой воде (30-35°С) на 10-15 мин до приобретения стенками кишок эластичности. Если они долго хранились (более 6 месяцев) в сухом помещении, продолжительность замачивания составляет 1-2 часа.

После вымачивания и продувки воздухом, перед набивкой фаршем, у соленых пузырей разрезают шейку и выворачивают их слизистой оболочкой наружу. Из пузырей длиной свыше 40 см и менее 25 см допускается изготовление сшитых оболочек.

Черевы, круга, синюги, проходники говяжьи, пузыри мочевые, гузенки свиные после проливки водой собирают в отдельную тару по калибрам. На каждый вид подготовленной оболочки прикрепляют бирку или этикетку, на которой указывают наименование, сорт и диаметр оболочки.

Подготовленные оболочки должны быть использованы в колбасном производстве в течение 2 часов. Неиспользованную в течение этого времени оболочку направляют в холодильную камеру с температурой 5-10 °С или консервируют поваренной солью.

Подготовка искусственных оболочек.

Искусственные оболочки поступают на предприятия:

в рулонах;

в отрезках различной длиной (от 0,15 до 0,6 м) с вязкой узла и петли (или заклиясо-ванные) на одном конце или без вязки (клипсы);

гофрированные.

Для производства вареных колбасных изделий используют белковые, целлюлозные и полимерные искусственные оболочки отечественного производства в соответствии с настоящей технологической инструкцией, а также импортного производства (в том числе, вискозно-армированные (фиброузные) и пр.) в соответствии с технологическими инструкциями по их применению, утвержденными в установленном порядке.

Подготовка искусственной белковой оболочки «Белкозин».

Искусственную белковую оболочку «Белкозин» хранят в упаковке производителя в сухих складских помещениях, защищенных от солнечного света, при температуре 15-25 °С на расстоянии не менее 1 м от нагревательных приборов при относительной влажности воздуха не более 57%.

Оболочку, поступившую в рулонах, при подготовке к шприцеванию предварительно разматывают (в вертикальном положении рулона), разрезают на отрезки и замачивают в проточной воде с температурой 15-25°С в течение 20-25 минут.

Подготовка оболочки из целлюлозной пленки (целлофана).

Перед наполнением фаршем оболочки кратковременно замачивают в течение 2-4 минут в воде с температурой 30-35 °С, окуная поочередно завязанным и открытым концом (после замачивания излишнюю влагу удаляют встряхиванием), или увлажняют в cспециальных помещениях или емкостях с относительной влажностью воздуха 95-100%.

При необходимости (в случае потери эластичности) допускается увеличивать время замачивания до 5-10 минут.

Целлюлозные оболочки для сосисок применяют без предварительно замачивания

Подготовка искусственных полимерных оболочек.

Оболочка из поливинилиденхлоридной пленки ("Повиден") для производства вареных колбас изготавливается непосредственно на автомате при формовании колбасных тонов, путем термосваривания пленки токами высокой частоты.

Полиамидные оболочки (типа «Амитан ПРО», «Амифлекс», «Амилайн» «Биолон») для вареных колбас, поступающие на предприятие в рулонном виде, предварительно нарезаются отрезки необходимой длины и замачивают с проливанием воды внутрь рукава. При использовании в гофрированном виде необходимо следить за тем, чтобы вся оболочка полностью холилась в воде.

Температура воды при замачивании оболочки должна быть 18-25 °С.

Продолжительность замачивания составляет:

для оболочки «Амитан ПРО» - в течение 1-2 минут (непосредственно перед формовкой колбас);

для оболочки «Амифлекс», «Амилайн», «Биолон»:

нарезанной на отрезки - не менее 30 минут;

в гофрированном виде - не менее 60 минут.

После замачивания остаточная вода удаляется из рукава оболочки.

104.Технология обработки рыбы и производство рыбопродуктов.

Рыба-скоропортящийся продукт. Её реализуют в свежем, охлажденном, мороженном видах, а так же в солёном, копчёном видах, в виде консервов, пресервов и других рыбных продуктов. Для предотвращения порчи рыбу сразу после вылова перерабатывают, а если переработка нежелательна, то её охлаждают или замораживают. Для этого используют лёд, снег, холодную воду. Часто при охлаждении и замораживании добавляется соль. Высококачественная мороженная продукция может быть получена только при использовании свежего сырья. Посмертные изменения в рыбе: 1) Гиперемия, 2) Окоченение, 3) Автолиз. После смерти количество гликогена в рыбе быстро убывает. В процессе посмертных изменений повышается температура. Чем больше температура, тем быстрее окоченение. Регулирование физико-химических и биохимических процессов начинается с прижизненного периода (уменьшение предсмертного периода). Идеальным состоянием рыбы для замораживания является состояние до наступления посмертного окоченения и в стадии посмертного окоченения.Одним из основных **способов консервирования** рыбы является холодильная обработка.. Охлажденной называют рыбу, температура тела которой своевременно доведена до температуры в толще мяса до -1...+5 С, и постоянно поддерживается на этом уровне.По виду охлаждающей среды **охлаждение** подразделяют на следующие способы: 1. Охлаждение морской водой, 2. Охлаждение смесью морской воды и льда. 3. Охлаждение рассолом,.2)Охлаждение льдом**.** 3)Охлаждение рассолом. Эффективным способом консервирования рыбы является **замораживание. Замораживание** — это способ консервирования, при котором рыбу охлаждают до возможно более низкой температуры. Рыбу можно заморозить целиком, кусками или филе. Следует замор-ть до -20оС. Рыбу с большим сод-ем жира до -25 - 30 градусов и ниже. Свежевыловленную замор-ют со скоростью 1-3 см/ч, от – 1 до -5оС.Существуют различные способы замораживания: естественный, искусственный и смесью льда и соли.1) Замораживание естественным способом**.** Живую рыбу укладывают в один слой на ледяной площадке водоема. Рыба замораживается очень быстро до наступления посмертных изменений. При t = -152)Искусственное замораживание**.** К нему относят воздушное (сухое) -25 -35оС, криогенное и мокрое (рассольное) замораживание. При t внутри камеры -30 и скорости движ-я воздуха 4,5м/с.Мокрое:1) Контактное; 2)Бесконтактное. В качкстве жидкой среды исполь-ют р-р соли.3)Льдо-соляное замораживание. Техника замораживания заключается в том, что рыбу пересыпают смесью льда и соли. Длительность замораживания до 24 ч. Замораживание идет под действием трех факторов: непосредственный контакт рыбы со льдом и солью, с рассолом, образующимся при таянии смеси, или с ячейками воздуха между компонентами смеси. Мороженую рыбу изготавливают в глазурованном виде. **Глазирование**— это процесс, при котором поверхность рыб, блоков рыбы покрывается тонкой ледяной оболочкой, предотвращающей обезвоживание продукта и окисление жира, содержащегося в нем. **Размораживание**— это процесс превращения льда, содержащегося в тканях мороженой рыбы, в воду. Температура при этом повышается до 0...-1°С. При размораживании в рыбе происходят необратимые процессы, связанные с денатурацией белка, окислением жира и вытеканием тканевого сока. Во время размораживания продолжается автолиз. **Посолрыбы**. Лучший способ сохранить рыбу длительное время - это засолить ее. Посол наиболее распространенный и, пожалуй, наилучший способ консервирования рыбы поваренной солью с целью предотвращения или замедления, а также предохранения от воздействия гнилостной микрофлоры. Сухой посол — самый простой и распространенный способ. Однако он применяется только в тех случаях, когда образование натурального тузлука, обеспечивающего просаливание, проходит достаточно быстро. *Мокрым,* или тузлучным, посолом называют способ, при котором рыбу солят в заранее приготовленном растворе поваренной соли, называемом искусственным тузлуком. При данном способе посола свежую разделанную или неразделенную рыбу помещают в рыбопосольную емкость (чан, ванна) с насыщенным раствором поваренной соли и выдерживают в нем в течение определенного времени. производстве консервов. При посоле в несменяемом тузлуке практически невозможно получить крепкосоленую продукцию, потому что тузлук быстро опресняется водой, выходящей из рыбы. *Чановый*посол широко распространен в рыбной промышленности. Мокрый посол применяется главным образом для приготовления малосоленых продуктов, в тузлуке солят рыбу перед горячим копчением и маринованием, при этом для посола используются чаны (ванны) цемент-ные, из нержавеющей стали. При чановом посоле тщательно промытую рыбу обваливают в соли и рядами укладывают в чан, пересыпая каждый ряд солью. берегов (например, сельдь), бывает кратковременным и массовым.(б*очковый посол, контейнерный* посол**,** *Баночный* посол) В зависимости от температурных условий посол может быть *теплым, холодным* и *с подмораживанием.* Теплый посол проводится, как правило, при температуре воздуха в цехе (без специального охлаждения), но не выше 15°С. Охлажденный посол проводится при температуре 0-5°С. *Холодным* посолом называют посол предварительно подмороженной рыбы в охлажденном помещении. Он применяется для обработки крупной и жирной рыбы (белуга, семга, осетр, нельма, крупная сельдь, чавыча и др.). Рыбу перед посолом подмораживают (-2...-4°С) **Тепловая обработка рыбы.**Важнейшая из многих технологических операций, позволяющих использовать рыбу в питании - тепловая обработка.Необходимость такого воздействия связано с тем, что происходит размягчение ткани, поскольку соединительные ткани, придающие «жесткость», частично желатинизируются, улучшаются органолептические свойства мяса, увеличивается усвояемость продукта, происходит разрушение микрофлоры и обеспечивается необходимая санитарно-гигиеническая безопасность. При тепловой обработке рыбы и рыбопродуктов начиная с 60-70 С происходит денатурация белков - в первую очередь разрушается третичная структура миофибриллярных и сарко-плазматических протеинов с выделением «свободной» воды. В последствие именно эта вода может участвовать в желатинизации коллагена и эластина. Затем происходит частичный гидролиз (до 10%) мышечных белков с образованием полностью или частично растворимых соединений (пептиды, аминокислоты

Сушка. В зависимости от температурного режима различают холодный и горячий способы сушки, а также сушку методом сублимации. Холодным называют способ консервирования рыбы путем удаления из нее воды в искусственных или естественных условиях при температуре воздуха не выше 40°С. Горячим называют способ консервирования, при котором удаление воды из рыбы осуществляется воздухом с температурой выше 100°С (120-200°С). **Горячая сушка** - только в искусственных условиях - специальных сушильных установках. **Копчение рыбы-** способ консервирования, при к-м ткани рыбы пропитывают продуктами теплового разложения древесины (дым, коптильная жидкость). В процессе копчения, особенно горячего, в рыбе происходят физические, химические и гистологические изменения, приводящие к образованию специфических качеств продукта — аромата, вкуса, внешнего вида, консистенции. В зависимости от температуры тепловой обработки различают три вида копчения рыбы: холодное (при температуре не выше 40°С), горячее (при 80-170°С), полугорячее (до 80°С). Бездымное копчение. Кроме дыма, для копчения рыбы применяются коптильные препараты. Их получают из отходов при пиролизе (разложение под действием высоких температур) древесины. Известны два вида коптильных препаратов - МИНХ и «Вахтоль». Они не содержат канцерогенных веществ, обладают антиокислительными и бактерицидными свойствами.

105.Состав и свойства молока как сырья для молочной промышленности.

**Молоко**– биологическая жидкость, выделяемая молочной железой млекопитающих и предназначенна для поддержания жизни новорожденного. Оно синтезируется клетками молочной железы. Питательные вещества, необходимые для синтеза молока поступают в железу с кровью. **Составные части молока:1)** Истинные 1.1) Основные: вода-86-89%, белок3,6% (казеин-2,5-3%, сывороточные белки-0,6-0,8%), сухие вещества-11-14%, жир-3-3,5%, углеводы-4,7-4,9%(лактозы 4,6-4,8%), минер-е. вещества-0,7-0,9% 1.2) Второстепенные: Соли(0,7-0,9%), лимонная к-та,ферменты, витамины,пигменты,газы. **2)Посторонние:** антибиотики,гирбицид, пестициды, нитриты. В составе молока свыше 120 в-в, он зависит от возраста, породы, пола, кормления животного. Молоко представляет собой полидисперсную систему. Дисперсная фаза находится в ионно - молекулярном состоянии. Это лактоза и минер-е соли: фосфат Са. Коллоидная система: - белки молока,альбумины и глобулины. Грубодисперсное сост-е – молочный жир. Дисперсной средой является водный р-р истинных растворимых частей молока которые бывают в молек-ом состоянии(соли,лактоза).Основной компонент молока яв-ся Вода*. Она* является диспергирующим элементом и растворителем отдельных компонентов молока(свободая-83-86%, связанная от 3до 5%).Свободная вода служит растворителем для водорастворимых компонентов ( сахара, орган-е к-ты), замерзает при 0оС и может быть удалена при высушивании. Связанная вода входит в состав коллоидов,т.е белков. На белках имеется заряд. У белков молока отриц-ый заряд. Ионизированные группировки или центры взаимоде-ют с водой и обр-ют гидратную оболочку(казеин отриц-й заряжен),если они растворяются то белок выпадает в осадок. Гидратная оболочка препятствует агрегитированию белков друг с другом. Связанная вода лишена подвижности, замерз при t меньше 0,неподвижна,нельзя удалить при сушке. Наиболее непостоянная часть молока это жир, поэтому часто говорят о СОМО.Молоко должно содержать не менее 8% СОМО, если меньше, значит в молоко добавлена вода .Молочный жир – сложный эфир 3-х атомного спирта глицерина и жирных кислот. В молоке их более 64, причём много насыщенных жирных кислот. Находятся в виде мельчайших жировых шариков от 2 до 5 мкм. Они окружены липопротеиновыми и гидратными оболочками. В 1 мл молока находятся 4 млрд. шариков. В парном молоке жир находится в жидком состоянии, затем переходит в кристаллическое состояние (гидролиз, осаливание, прогоркание–окисление жирных кислот).

**Белки-высокомолекулярные** соединения, более 80% их составляет казеин и 20% - сывороточные белки. Они отличаются качественным количественным составом. Сывороточные белки содержат больше незаменимых аминокислот, они более полноценны. При рН 4,6-4,7 происходит разделение белков – казеин выпадает в осадок, а сыворотные остаются на поверхности.

Казеин – фосфопротеид, он содержит фосфорную кислоту, присоединённую эфирной связью к остатку серина. Казеин в молоке находится в виде казеинаткальцийфосфатного комплекса, он обра-ет мицеллу. Несколько мол-л казеина сое-ся между собой через кальциевые мостики и обра-сясубмицеллы и они затем соед-ются в мицеллу. Молекулярная масса казеина 20-25 тыс. Да. Казеин в молоке встречается в виде фракций альфа, бета и каппа. Этот белок свёртывается под действием сычужного фермента, кромекаппа фракции или под действием кислот. Поэтому доля каппа фракций не должна превышать 10 % в казеине. Изоэлектрическая точка казеина 4,6-4,7, при этом он выпадает в осадок. Эти свойства используют при производстве кисломолочных напитков и продуктов. При повышении температуры (в том числе кипячении) казеин не изменяется. При созревании сыров на казеин действуют протеолитические ферменты и он распадается.

Сывороточные белки (альбумины, глобулины) не осаждаются под действием кислот и сычужного фермента, но осаждаются при нагревании.

Альбумин находится в виде альфа-лакто-альбумина, растворяется в воде, при нагревании молока до 70-75ºС выпадает в осадок в виде хлопьев белого цвета. Глобулины-бетаглобулины, устойчивее альбумина, при нагревании слегка подкисленного молока до 80ºС выпадают в осадк.***Углеводы****.* Основной углевод – лактоза-дисахарид, состоящий из глюкозы и галактозы, присутствует только в молоке, находится в 2-х формах – альфа и бета, которые могут переходит друг в друга. При растворении сухой лактозы в воде альфа форма даёт насыщенный раствор и она может ещё растворяться, так как переходит в более растворимую бета форму. Переход продолжается до наступления состояния равновесия между ними. Лактоза менее сладкая, чем сахароза, её гидролиз протекает медленно, распадается под действием лактазы и бета-галактозидазы.

При гидролизе образуется более сладкий глюкозо-галактозный сироп. МКБ, используемые для получения ферментированных молочных продуктов используют её в качестве питательного вещества и образуют из неё молочную кислоту путём брожения. В желудке человека есть лактаза, однако у некоторых людей она отсутствует. ***Минеральные соли****.*Молоко богато Са, Р, К Mg.Соли бывают органические и неоргнические(лактаты,цитраты), есть кислые и основные. Соли могут быть в растворимом и коллоидном (соли фосфорной кислоты) состоянии. В растворимом состоянии соли определяют термостабильностьмолока. При тепловой обработке должно быть равновесие между солями лимонной кислоты (цитратами) и фосфатными. Его нарушение приводит к свёртыванию молока при тепловой обработке. При отсутствии солей кальция молоко не свёртывается сычужным ферментом.Нужны для развития м-ов

***Витамины***А, Р, С, около 30% разрушаются до доставки молока на заводы, 70% водорастворимых витаминов разрушаются при тепловой обработке, остаются только жирорастворимые.

106.Характеристика видового состава микрофлоры молока.

**Первичная микрофлора молока**-попадание извне – молочные наружные протоки молочной железы, поверхность вымени, тела животного, руки персонала.

**Вторичная** - в результате размножения в молоке ранее попавших в него микроорганизмов.Основная масса мо играет - роль. В молоке молочнокислые и немолочнокислые бактерии. Молочнокислые бактерии осущ-ют гомоферментативное молочнокислое брожение- попадая в молоко сбраживают лактозу с образованием молочной кислоты и гетероферментативное других CO2,C2H5OH и друг-е продукты.Ароматообразующие м-мы синтез-ют диацетил и диатонил.МКБ характеризуются понятием энергией кислотообразования и пределом кислотообразования.*Энергия кислотообразования –* скорость накопления молочной кислоты в единицу времени, т.е. время в течении которого молоко свёртывается при минимальном заражении его микроорганизмами.*Минимальное заражения –* количество посевного материала, взятого бактериальной петлёй диаметром 3 мм и внесённого в 10 мл молока.*Предел кислотообразования бактерий –* самая высокая кислотность, которую могут дать микроорганизмы в течении 5-7 суток культивирования их в оптимальных условиях.

*Семейства молока.*

*- Micrococcaceae, род micrococcus, staphilococcus-*сбраживают лактозу по типу молочнокислого брожения, имеют не высокую энергию кислотообразования, кислотность 26-60 ºТ.В молоке происходит распад белков до пептонов, имеющих горьковатый вкус, у семейства активные протеазы.Некоторые микрококки могут расщеплять жиры – прогоревший привкус, могут сохраняться и в пастеризованном молоке, так как термоустойчивы.Основным местом обитания стафилококков является слизистые оболочки верхних дыхательных путей человека и животных, некоторые виды патогенны.Свыше 90% людей является носителями патогенных штаммов. Они вызывают ангины, маститы, гнойные заболевания.Стафилококки – круглые клетки, расположенные в виде гроздьев. Продуцируют энтеротоксины, являющиеся причиной пищевых отравлений – интоксикаций, т.е. при тепловой обработке молока они погибают, а токсины остаются, чтобы его нейтрализовать молоко следует кипятить в течении 2-х часов или при 120ºС 20 мин.

*Staphilococcusaureus (золотистый стафилококк)* наиболее часто встречается и при нагревании молока с этим микроорганизмом токсины не разрушаются поэтому на предприятиях строго следят за этим, проверяют ежедневно руки рабочих на гнойничковые заболевания; проводят своевременную тепловую обработку молока.

*Enterobacteriaceae*(кишечные палочки) рода Shigella (дизентерия - Shigellazella), брюшной тиф – Salmonella – патогенные.Aerobacteroeregenes – непатогенные, proteus – гнилостные, echerihiа - условно патогенные. Не термоустойчивые.

Aerrobacter oeregenes, E.coli развивается при 5-55ºС – бактерии группы кишечной палочки (БГКП). Роль резко отрицательная – вспучивание сыра, нечистый вкус молока. БГКП – санитарно-показательные микроорганизмы, термоустойчивы, устойчивы к дезинфицирующим веществам также как болезнетворные бактерии. Их присутствие – нарушение санитарно-гигиенических правил на предприятии. *Proteus*сильно расщепляют белки (протеолитическое свойство), могут вызывать пищевое отравление.

*Гнилостные м-мы*-разлогаютбелки,придают горький вкус,в сливочном масле сырный вкус,гибнут при 35оТ не любят кислую среду.*Pseudomonadoceae*род *Pseudomonas*(палочки) – психрофильные микроорганизмы (0-7ºС), 25ºС, в условиях повышенной кислотности их развитие тормозится. Способны расщеплять белки, в результате появляется гнилостный, неприятный вкус, бактерии нетермоустойчивы.

*Bacellaceae*обладают способностью образовывать споры. Род *Bacillus*– аэробы с высокой протеолитической активностью. *Bacillussubtilis – сибирская язва.*

*Clastridium –* анаэробы – маслянокислые бактерии – сбраживают лактозу по типу мясляного брожения, вызывают позднее вспучивание сыра (30 суток), салистый привкус.**Молочнокислые и другие м-мы входящие в состав заквасок** *Lactobacteriaceae – Streptococaceae (leuconostoc) – Streptococcuslactis – молочный стрептококк; st.cremoris; st.cremoris; st.termophilus. Lactobacteriaceae, st.acetoinicus и st.diacetilactis – ароматообразующие.*

*St.lactis –* энергия кислотообразования 10-12 ч, предел кислотообразования110-125ºС, оптимальная темпеатура развития 30-35ºС, возбудитель естественного сквашивания молока. Сгусток образуется плотный, хорошо отделяется сыворотка (творог). St.cremoris имеет меньшую активность предела кислотообразования 110-115ºТ, при сквашивании образуется вязкий сгусток, сыворотка выделяется плохо (сметана, напитки), температура развития 25-27ºС. St.thermophilus – температура развития 40-45ºС, сгусток вязкий, чувствителен к антибиотикам – тест культура для определения наличия антибиотиков.*Leuconostoc –* гетероферментативный, ароматобразующий, *leuc.citroorum, leuc.parocitrouorum –* низкая кислообразующая способность, способны сбраживать соли цитрусовых кислот.

*Lactobacteriumlactis, lac.acidophilium, lac.bulgaricum – болгарская палочка* – термоустойчивые, температура развития 40-45ºС.Lac.casei (сырная палочка), lac.plantarum – стрептобактерии, температура развития 30-35ºС.Lac.breue, lac.bifidum – бетабактерии, кислотообразующая способность 3-8 часов, предел кислотообразования 350-400ºТ.

Уксуснкислые бактерии – грамотрицательные аэробы, используют вмочой промышленности, способствуют поддержанию определённой консистенции и приданию определённых вкусовых качеств ферментированным молочным продуктам. *Acetobacter, Cluconobacter*оптимальная температура развития 25-30°С, приспособлены к существованию в кислой среде. Молочные дрожжи обеспечивают спиртовое брожение, напитки приобретают слегка острый щиплющий вкус и пенистую консистенцию.

Пропионовокислые бактерии: род Пропионибактериум.Учас-ют в созревании сыров группы маасдам.Сбраживаютлактаты.И образ-ся уксусные и прионовые к-ты,котор-е обогащают вкус и аромат сыра.Предельная кислот-ть 160оТ – 170 Т, t= 30-35оС

107.Биотехнология бактериальных заквасок и препаратов.

При производстве кисломолоч-х продуктов молочно кислые бактерии возд-ют на компоненты молока, вызывая их биохимические изменения с помощью ферментов. Такие продукты называют ферментированными кисломолочными продуктами. При их производстве используется специально подобранные и выращенные в стерильных условиях чистые культуры бактерий. Из чистых культур на специальных биофабриках изготавливают бактериальных препараты и закваски.

***Закваски и препараты могут быть***- моновидовые, но чаще поливидовые (несколько штук м/о) чистые культуры специально селекционных по ряду полезных технологических и биохимических свойств в зависимости от концентрации клеток, выпускают бактериальные концентраты и закваски, они бывают жидкие, содержат около 106-107 клеток в 1 мл. Их недостаток – они имеют ограниченный срок годности от 0ºС до 6 ºС до 10 суток, при комнатной температуре не более 5 суток.

Сухие закваски 107-108 клеток МКБ в 1 г. Срок хранения при температуре от 0 до 6 ºС до 4 месяцев. В виде сухих заквасок поставляют обычно моновидовые культуры, бакконцентраты есть сухие и жидкие, содержание бактериальных клеток в них достигает 1011 клеток в 1 г. Они имеют большое преимущество. Их недостаток – после активации может нарушаться соотношение между м/о, которые входят в состав бакконцентратов. Бакконцентраты поступают на предприятие обычно в пенициллиновых флаконах или в 2-х слойных пакетах.В настоящее время получили широкое применение закваски прямого внесения. ДВС это высококонцентрированные и стандартизированные замороженные и лиофилизированные культуры для прямого внесения в молоко.Кол-во жизнеспособ-х клеток м-ов в 1грамм заквасок не менее 5\*1010. Размер упаковки10\*50ед, 25\* 200ед,20\* 500 ед.

**Требования, предъявляемые к штаммам МКБ, входящим в состав заквасок**

**- штамм должен иметь высокую энергию кислотообразования, при низкой энергии кислотообразования создаются условия для развития нежелательной микрофлоры и будет затягиваться технологический процесс- м/о должны давать чистый вкус и запах, даже при совместном культивировании - должны образовывать сгусток с нормальной консистенцией, характерный для данного вида бактерий- ароматобразующие бактерии должны создавать в среде аромат на основе ароматических веществ (эфиры, спирты)- штаммы не должны обладать антагонистической активностью по отношению друг к другу- они не должны быть чувствительны к действию антибиотиков- штаммы МКБ должны нормально развиваться в молоке всех периодов года (важно в период весеннего несквашивания молока)**

Для того, чтобы повысить активность заквасок в этот период используют препарат Антибакт-Углич – это среда, содержащая низкомолекулярные пептиды.

- при подборе штаммов следует учитывать особенности технологического процесса конкретного продукта. Если творог, то сгусток должен хорошо отделять сыворотку, сметана. У сметаны сгусток должен быть вязкий, удерживать сыворотку.

- для производства сыра нужно, чтобы м/о обладали протеолитической активностью.

***Технология приготовления бактериальных заквасок в производственных условиях.*** Из сухих и жидких заквасок и бактериальных препаратов на предприятии готовят закваски. Технологический процесс состоит из операций.- отбор и подготовка молока для приготовления заквасок - тепловая обработка молока и охлаждение до температуры заквашивания- внесение молочнокислых культур (заквашивание)- сквашивание молока- охлаждение закваски и контроль годности для её использования.

***Требования к молоку:*** Для заквасок отбирают молоко высокого качества. Их готовят на цельном или на обезжиренном молоке,т.к (в жире не раз-ся м-мы.) Предварительно молоко очищают на сепараторахмолокоочистителях.

Тепловая обработка должна быть тщательной для уничтожения всей микрофлоры молока, для этого его стерилизуют при 120ºС 15 мин или кипятят 30 минут или пастеризуют при 95 ºС 1 час. Затем охлаждают молоко до температуры заквашивания. Для каждой закваски существует своя температура: мезофильные бактерии – 35-40 ºС, термофильные 40-45 ºС.Затем в охлаждённое молоко вводят сухой или жидкий бактериальный препарат в стерильных условиях. Флакон обрабатывают спиртом или обжигают, затем берут одну порцию бактериального препарата (1 часть), растворяют в небольшом количестве молока (1-1,5 л) и в жидком виде вводят в резервуар с молоком, перемешивают в течение 5 минут, оставляют в покое, затем снова перемешивают для равномерного распределения бактерий и оставляют в покое до образования сгустка. После его образования делают препарат и рассматривают под микроскопом. Также делают посев на кишечную палочку, коли-титр закваски должен быть 10 мл и выше. Затем закваску охлаждают до температуры 2-6 ºС и хранят не более 24 часов до пересадки.

108.Биотехнология жидких кисломолочных продуктов.

Кисломолочные продукты это диетиеские продукты. Классификация кисломолочных напитков

- по видам МКБ, используемых в составе молочных заквасок

1. молочнокислые напитки, вырабатываемые с использованием мезофильных МКБ (простокваша с *Lactococcuslactis*), в последнее время практически не производятся, в связи с медленным развитием бактерий в молоке. 2 . кисломолочные напитки с использованием термофильных МКБ – варенец, ряженка, йогурт, ацидофильные напитки. 3. напитки смешанного типа брожения (молочнокислого и спиртового): кефир, айран, кумыс. 4. напитки, вырабатываемые с использованием бифидобактерий: бифидок, биомакс, здоровье.

- по содержанию жира

1. нежирные – из обезжиренного молока2. маложирные – до 2,5%3. жирные – свыше 2,5%

- по способу термической обработки молока :1. из пастеризованного2. из топлёного молока

***Способы приготовления молочнокислых напитков***

*- термостатный способ* (наиболее старый, в настоящее время применяется редко). Молоко подготавливают к заквашиванию: вносят закваску в охлаждённое до температуры заквашивания молоко и направляют на розлив в стеклянные бутылки, полимерные пакеты. Тару затем выдерживают в термостате до образования сгустка, затем помещают в холодильник. Преимущество– получается продукт с более плотной консистенцией.

- *резервуарный способ.* Заквашивание смеси, сквашивание и охлаждение происходит в одной ёмкости с рубашкой, снабжённой мешалкой. Т.е. сквашенную смесь перемешивают, нарушая сгусток, затем в рубашку подают ледяную воду и охлаждают. Преимущества данного способа:

– обеспечиваются лучшие условия санитарно-гигиенического плана, так всё происходит в одной ёмкости.

- образуется большее количество молочной кислоты – если происходит загрязнение посторонней микрофлорой, то она подавляется;

- увеличивается выход продукции с единицы площади производственных помещений в 1,5-2 раза.

- возможность автоматизации технологического процесса сквашивания

- однородность продукции.

***Технологическая схема производства кисломолочных напитков –*** приёмка молока и оценка качества – очистка – нормализация – гомогенизация- пастеризация – охлаждение до t заквашивания - заквашивание а) б)а)При термостатном способе – фасовка и упаковка – сквашивание –охлаждение и созрев-е. б)При резервуарном способе – сквашивание – охлаждение – фасовка и упаковка – доохлаждение – хранение и реализация.Молоко для кисломолочных напитков должно соответствовать требованиям ГОСТа – не ниже 2-го сорта, кислотность не выше 19ºТ, плотность не ниже 1028 кг/м3, можно применять обезжиренное молоко с плотностью не ниже 1030 кг/м3. Допускается применять пахту. Нормализованную смесь нагревают,очищают и пастериз-ют.температура пастеризация 92-94 ºС 2-3 мин, если температура 85-97 ºС – 5-15 минут.Высокая tтобесп-етповыш-е способ-ти белка удерж-тьвлагу,за счёт денатурации сывороточных белков. Тепловую обработку сочетают с гомогенизацией, обычно её проводят при температуре пастеризации, с давлением 15±2,5 МПа. Затем охлаждают смесь дотемпературе заквашивания и добавляют закваску в количестве 5-10% при перемешивании, затем перемешенную заквашенную смесь 15 минут и оставляют до сквашивания, контролируют сквашивание по кислотности сгустка. В зависимости от продукта время сквашивания варьирует от 3-х до 12 часов.При термостатном способе сквашивание происходит в потребительской таре и охлаждение нужно вести осторожно, чтобы не произошёл синерезис.Оконч-е сквашив-я опред-ют по образов-ю достаточно плотного сгустка и кислотности 65-90оТ продолжит-ть от 3 до 12 ч. При резервурном способе охлаждают до t заквашивания, смесь напр-ют в ёмкость где осущ-ся заквашивание и сквашивание, по окончанию скваш-я сгусток переме-ют 30-40 мин,, охлаж-т до 8-12 градусв, направляют в промежуточную ёмкость и фасуют. В обоих способах охлаж-е ведут медленно, чтобы избежать синерезис(отделение сывротки)Продукты помещ-ют в камеру, охл-ют до 6 градусов,идётуплотнее сгустка, повыш-ся вязкость, молочнокисл.бактерии не развив-ся,но раз-сяароматообраз-ие и поя-ся аромат, охл-ют до 4-8 ч.

***Технология производства ряженки и варенца*** Они вырабатываются термостатным и резервуарным способами. нормализованною смесь подвергают высокотемпературной обработки при 95-99 ºС для ряженки в течение 3-4 часов; для варенца 40±80 минут. Во время выдержки смесь перемешивают каждый час 1-2 раза для предотвращения образования пенок внутри продукта. Смесь сначала нагревают на трубчатой установке и направляют в резервуар для выдержки, иногда пастеризацию заменяют стерилизацией 120ºС 20 минут для варенца.tзакваш-я40-45 ºС, закваска не менее 5%термофильныз стрептококков, для ряженки можно добавить болгарскую палочку в соотношении 4:1(палочку редко добав-ют т.к очень высокую кислот-тьобразет). Сквашивание ведётся 3-4 часов до получения плотного сгустка с кислотностью 65-75 ºТ. Затем начинают охлаждение, вначале без перемешивания в течение 30 минут до часа (так как может выделиться сыворотка) до 10-15 ºС, затем продукт фасуют. Кислотность готового продукта 110 ºТ.Варенец чаще всего выпускают с жирностью 2,5%, ряженка – 1; 2,5; 4%. Вообще в зависимости от массовой доли жира ряженку делят на обезжиренную (0,1%), нежирная (до1%), маложирная (до2,5%), классическая (до 4,5%), жирная (до 7%), высокожирная (до 9,5%).

Особенности производства кефира

Кефир вырабатывают по общей технологической схеме производства молочнокислых напитков, особенности определяются составом закваски. Она представлена кефирными грибками – симбиотические образования, в состав которых входят мезофильные молочнокислые лактококки (Lactococcuslactissubslactisи lactococcusdiacetilatis), молочнокислые палочки – уксуснокислые бактерии и молочные дрожжи. Кефирные грибки поддерживают на предприятии путём пересева в новую порцию обезжиренного молока. В качестве закваски используют сквашенное молоко, отделённое от кефирных грибков. Кефир относится к продуктам со смешанным типом брожения, так как дрожжи сбраживают лактозу с помощью спиртового брожения и молочнокислого брожения. Виды кефира: нежирный, 2,5%, 1%, 3,2%, с плодово-ягодными наполнителями. Кефир сквашивают при температуре 20-25 ºС в течение 8-12 часов. Окончание сквашивания определяют по кислотности сгустка (она должна быть от 85 до 100 ºТ). При более высокой температуре сквашивания процесс идёт быстрее , но образующийся сгусток плохо удерживает сыворотку, ухудшаются вкусовые качества кефира. Используют температуру, благоприятную для развития дрожжей, в противном случае они будут вытесняться МКБ. После окончания сквашивания, подаётся холодная вода и ведут охлаждение до 14- 16 ºС при периодическом перемешивании, затем продукт оставляют для биологического созревания, которое длится 8-12 часов. При этой температуре молочнокислые м/о не развиваются, но идёт активное развитие дрожжей, накапливается их биомасса, происходит гидратация белков, что сопровождается повышением плотности сгустка, появляется специфический аромат, затем кефир ещё раз перемешивают и направляют на фасовку, доохлаждают до 2-6 ºС в холодильных камерах и отправляют на реализацию. Кислотность не выше 120 ºТ.

109.Биотехнология белковых кисломолочных продуктов

*Творог –* белковый кисломолочный продукт, выработанный из пастеризованного, нормализованного или обезжиренного молока путём сквашивания культурами МКБ с применением или без использования молокосвёртывающего фермента и хлорида кальция с удалением из сгустка части сыворотки. Содержание белка от 14 до 18%, много минеральных веществ, солей магния, кальция, железа, фосфора. Особое значение имеют соли кальция и фосфора, так как они находятся в легкоусвояемой форме.

От способа образования сгустка производство творога осуществляют традиционным и раздельным способами.

*Технологическая схема:*

*Приемка сырья → очистка → составление нормализованной смеси → пастеризация смеси → охлаждение до температуры заквашивания → заквашивание (гомогенизацию не проводят, т.к. она замедляет отделение сыворотки) → сквашивание → разрезание сгустка → подогрев сгустка (кислотный способ).*

*→ выдержка заквашенного молока → внесение сычужного фермента и CaCl2 →свертывание (сквашивание) молока → разрезание сгустка (для кислотно-сычужного способа).*

*→частичное удаление сыворотки →розлив сгустка в мешки → самопрессование → прессование →охлаждение творожного сгустка → фасовка, упаковка, хранение и реализация.*

Нормализация проводится по массовой доли жира, но с учетом массовой доли белка.

. Нормализованное молоко направляют на пастеризацию. Используют 78-800С выдержка 20-25 секунд, относительно мягкий режим. Так как температура пастеризации должна обеспечивать получение достаточно плотного сгустка и с повышением температуры плотность сгустка увеличивается, но одновременно возрастает способность удерживать влагу. Этот режим считается достаточным для уничтожения микрофлоры и получения хорошего, плотного сгустка. Пастеризованную смесь охлаждают до температуры заквашивания.

Используют 2 режима сквашивания. Длительный при температуры 28-30 0С, в теплое время года и 30-320С в холодное время, продолжительность 10-12 часов. Ускоренный 34-360С в теплое время и 36-380С в холодное время, продолжительность от 3 до 7 часов. В смесь вносят от 3 до 5 % закваски и соответственно если длительный то это лактококки, если ускоренный, то смесь лактококков и термофильного стрептококков.

Само производство происходит в твороженных ванных, они открыты и поэтому в теплое и холодное время температура разная.

Далее идет процесс в зависимости от способа:

–если кислотный, то молоко тщательно перемешивают и оставляют в покое до образования сгустка. Механизм образования сгустка – коагуляция белка из-за изменения изоэлектрической точки. В отличие от кислотно сычужного этот сгусток будет иметь более мягкую консистенцию и меньшую прочность. Это объясняется неодинаковой дисперсностью белковых частиц. В кислотно сычужном сгустке преобладают частицы крупных размеров 50-30 мкм и средний от 10 до 30 мкм. В сгустке нет крупных частиц, а на долю мелких (менее 10мкм) приходится около 55%. Готовность определяют пробой на излом. Делают разрез сгустка и приподнимают его шпателем, если скол удерживается, то сгусток готов. Более точно определяют по кислотности сгустка (70-800Т) у сыворотки 40-450Т. Готовый сгусток разрезают на кубики, для этого используют ножи или лиры. Оставляют на 10-15 минут для частичного отделения сыворотки и уплотнения кусочков сгустка. Поскольку сыворотка в этом способе выделяется медленно применяют нагрев сгустка, температура 40-450С. Это вызывает более сильное стягивание белкового сгустка и сыворотка выделяется сильнее. Сгусток осторожно перемешивают для равномерного размера, что бы кубики не нагрелись иначе идут потери белка с сывороткой, важно не допускать перегрева, консистенция становится грубой и резинистой. Оставляют в покое на 20-30 минут для лучшего обезвоживания. Свободную сыворотку удаляют через сифон.

–Кислотно-сычужный способ. Закваску выдерживают 2-3 часа, до кислотности 32-350Т. Затем вносят 40%-ый раствор CaCl2, из расчета 400г соли на тонну молока. Таким способом восстанавливают те ионы, которые выпадают в осадок при пастеризации. В молоко вносят сычужный фермент или пепсин. Дозировки зависят от активности фермента, чаще в виде раствора от 1 до 2,5%. Затем идет сычужная коагуляция. Сгусток разливают в базовые или лавсановые мешки по 7-9 кг. Мешки завязывают и складывают на пресс тележки с сетчатым дном, что бы сыворотка могла выходить. При самопрессовании под действием собственного веса из сгустка отделяется сыворотка. Самопрессование идет в цехе, температура воздуха не выше 160С, что бы не развивались м/о, продолжается 1- 1,5 часа. Окончание определяют по поверхности сгустка, она становится матовой. Только затем для ускорения процесса проводят прессование, для этого используют специальные прессы или установки для одновременного охлаждения и прессования. Установки представляют собой трубчатые конструкции, внутрь помещаются мешки, в рубашку подается холодная вода, конструкция вращается. Если используют обезвоживание сгустка на сепараторах, то творог будет иметь мажущуюся, пастообразную консистенцию. Используют дополнительное охлаждение до 2-6 0С, затем творог отправляют на фасовку.

***Производство творога раздельным способом*** заключается в том, что из обезжиренного молока вырабатывают нежирный творог, к которому добавляют сливки, повышая жирность до необходимой.*Технологическая схема:* Приёмка сырья – сепарирование молока – пастеризация обезжиренного молока и сливок – охлаждение молока до температуры заквашивания – заквашивание – далее как кислотный способ.Готовый нежирный творог, прессуют его до определённой влажности и перемешивают его на вальцовой машине для получения однородной консиситенции. В месильной машине его перемешивают с пастеризованными и охлаждёнными до 6-8 ºС сливками, с массовой долей жира 50-70% до получения однор. Консист.Далее творог направляют на фасовку. Преимущество раздельного способа: облегчается отделение сыворотки из нежирного сгустка, снижается потеря жира на 13-14 кг жира на 1 тонну творога, более высокое качество творога, за счёт снижения его кислотности

Сметана – кисломолочный продукт, который произведен путем сквашивания сливок с добавлением молочного продукта или без их добавления, с использованием заквасочных м/о – лактококков или смеси лактококков и термофильных стрептококков, массовая доля жира в котором составляет не менее чем 10%.

В зависимости от молочного сырья изготавливают:

- из нормализованных сливок;

- восстановленных сливок;

- их смесей

• Приемка молока

• Сепарирование молока и получение сливок

• Нормализация сливок

• Пастеризация сливок

(гомогенизацией сливок) (с созреванием сливок)

Гомогенизация сливок Охлаждение сливок до 2-6°С

Охлаждение сливок до

температуры заквашивания Созревание сливок

Подогрев до температуры

Заквашивания

• Заквашивание и сквашивание

• Охлаждение

• Фасовка

• Доохлаждение и созревание

• Хранение и реализация

Сначала идет приемка молока. Требования как для производства кисломолочных напитков. Кислотность до 19 °Т. Используют натуральные сливки с кислотностью плазмы не выше 26°Т (т.к. в ней нет жира).

110.Биотехнология молочных продуктов с повышенным содержанием жира.

Сметану получают из нормализованных пастеризованных сливок путем сквашивания их закваской, приготовленной на чистых культурах молочнокислых бактерий, и созревания при низких температурах. Технологический процесс производства сметаны состоит из следующих технологических операций: приемки и сепарирования молока, норма- лизации сливок, пастеризации, гомогенизации и охлаждения сливок, заквашивания и сквашивания сливок, перемешивания сквашенных сливок, фасовки, охлаждения и созревания сметаны. Сливки сквашиваются закваской в количестве от 1% до 5 %. Для сметаны 20%-ной и 30%-ной жирности используют закваску, приготовленную на чистых культурах мезофильных молочнокислых стрептококков, для сметаны диетической и 15%-ной жирности – на чистых культурах мезофильных и термофильных молочнокислых стрептококков, а для ацидофильной – на чистых культурах ацидофильной палочки и ароматобразующего стрептококка. Для заквашивания сливок используют также бактериальный концентрат. Сквашивание сливок проводят до образования сгустка и достижения определенной степени кислотности. Длительность процесса сквашивания составляет от 6ч до16ч. в зависимости от вида сметаны. После сквашивания сливки перемешиваются в течение 3-15 мин и направляются на фасовку самотеком или насосами. Технологический процесс производства сметаны осуществляется на линии.

Для изготовления сметаны используется следующая сырье: молоко коровье – сырье не ниже второго сорта; молоко цельное сухое высшего сорта; концентрат бактериальный сухой мезофильных молочнокислых стрептококков КМС-су (Lactococcus lactis subsp cremoris (biovar diacetilactis), Lactococcus lactis subsp lactis, Streptococcus thermophilus); концентрат бактериальный сухой КТС-су (Lactococcus lactis subsp. сremoris (biovar diacetilactis), Lactococcus lactis subsp lactis, Streptococcus thermophilus); закваски МСС, КДС, МТС (Lactococcus lactis subsp. сremoris (biovar diacetilactis), Lactococcus lactis subsp lactis, Lactococcus lactis subsp. сremoris, Streptococcus thermophilus); концентрат бактериальный замороженных термофильных молочнокислых стрептококков КТС-зам. (Streptococcus thermophilus). Сырье, используемое для производства сметаны должно соответствовать требованиям СанПиН 2.3.2.1078, СанПиН 2.1.4.1074. Допускается использование импортного сырья, что по показателям качества и безопасности не уступает вышеперечисленным требованиям, не меняет природу продукта и должно быть разрешено учреждениями и органами Государственной санитарной службы Украины.

Маркировка единицы потребительской упаковки должна содержать следующие информационные данные о продукте: название продукта; норму массовой доли жира; название и местонахождение изготовителя; товарный знак (при наличии); массу нетто продукта (в г или кг); информацию о составе продукта (в том числе заквасок для сметаны), пищевую ценность, количество молочнокислых микроорганизмов; условия хранения; дату изготовления, срок годности; обозначение стандарта, по которому выпускается продукт; информацию о сертификации продукта.

При производстве сметаны с массовой долей жира 10% используют бактериальные концентраты «БК-Углич-СМ». «БК-Углич-СМ» – мезофильные молочнокислые стрептококки, подавляющие развитие бактерий группы кишечной палочки в сметане. Бактериальные концентраты используются в виде закваски приготовленной безпересадочным способом или непосредственным добавлением к сливкам. Беспересадочным способом закваску получают на цельном или обезжиренном молоке, пастеризованном при 93-97оС с выдержкой 43-47 мин. или стерилизованном при 120-122оС в течение 10-14 мин. Молоко охлаждают до 30-32оС, вносят концентрат из расчета одна порция на 100-200 литров молока и выдерживают при данной температуре 6-18 часов до сквашивания. Готовую закваску охлаждают до 10оС и хранят не более 24 час. Кислотность готовой производственной закваски 85-105оТ. Для заквашивания сливок с целью производства 10% сметаны рекомендуется применять закваски для сметаны, образующие вязкие сгустки.

При непосредственном внесении бактериального концентрата (одна порция сухого) в сливки его предварительно растворяют в 20-30 мл стерилизованного или пастеризованного и охлажденного до 28-30оС молока в стерильной емкости. Затем вносят в 195-205 л сливок температурой 28-32оС, перемещают сразу и через 1-2 часа и выдерживают в течение 14-18 часов до образования сгустка. Бактериальный концентрат – закваска для сметаны – должен храниться при температуре ниже 0оС не более чем 3 месяца.

111.Биотехнология масла.

Сливочное масло – пищевой продукт, основной составной частью которого является молочный жир. Основа процесса получения молочного жира – выделение жира из сливок в виде жирового концентрата, затем равномерное его распределение и пластификация.

Жировую фазу концентрируют 2-мя способами:- взбиванием сливок в холодном состоянии - сепарирование сливок в горячем состоянии

При взбивании сливок в холодном состоянии идёт поглощение воздуха. Цикл производства длится 1 сутки, так сливки перед взбиванием должны созреть.Преобраз-е идёт 30-40 мин,сбивание около суток.Преим-во сбивания: лучшая консис-я. При сепарировании сливок в горячем состоянии – полученные высокожирные сливки быстро охлаждают, идёт кристаллизация жира, так как сепарирование идёт при высокой температуре, то дополнительно обеспечивается микробиологическая чистота. Такое масло содержит больше жира, так как жир из пахты весь переходит в масло.Недостаток: часто бывают пороки консистенции ,кроштливость и низкая термоустойчивость.

***Требования к сырью для производства сливок.*** Сырьё: коровье молоко и полученные из него сливки. Молоко должно соответствовать требованием ГОСТа. Эффективность сепарирования зависит от степени дисперсности жировых шариков, от массовой доли жира в молоке и жирнокислотного состава жира. Если размер жировых шариков до 1 мкм, то степень использования жира нулевая – жир не выделяется; от 1 до 2 мкм – 33; от 2 до 3 мкм – 68%; свыше 8 мкм – 100%. Размер жировых шариков зависит от условий содержания, породы коровы, транспортировки, периода лактации. Гомогенизированное молоко направлять на производство масла нельзя. Наибольший размер жировых шариков наблюдается в середине лактационного периода (лето). На вкусовые показатели и консистенцию масла оказывает влияние состав молочного жира. Он непостоянен, биологическую ценность и стойкость при хранении повышает содержание полиненасыщенных жирных кислот. От этого зависит температура плавления и кристаллизации масла, чем больше содержание полиненасыщенных кислот, тем ниже температура плавления. В летний период их содержание достигает 6%, зимой -2%.Летом масло более мягкое,оно лучше связывает влагу. Наиболее оптимально содержание жира в сливках при производстве масла непрерывным взбиванием: 38-43%; Для масла, выработанного периодическим способом, 32-37%.кислотность плазмы 21-26ºТ. Кплазмы= 100\*Ксл / 100 –Жсливки. Проводят пробу на термоустойчивость – 1 мл сливок кипятят и выливают в чашку Петри, если в них присутствуют хлопья, то сливки относят ко 2-му сорту, если нет – то к первому сорту, если хлопьев много – то сливки не термоустойчивые. Не применяют сливки, разбавленные водой, с посторонними запахами и привкусами, но некоторые запахи можно удалить дезаэрацией и промывкой. Промывка применяется при высокой кислотности. Сливки разбавляют водой с температурой 55-60ºС и сепарируют, полученные сливки смешивают с обезжиренным молоком нормальной кислотности 19ºТ до массовой доли жира 6% и снова сепарируют. При этом удаляется молочная кислота, кислые соли, может теряться часть жира. Дезаэрация и аэрация применяется для удаления запахов. Для этого сливки тонким слоем в горячем состоянии пропускают по поверхности охладителя и продувают воздухом с помощью вентилятора, затем проводят тепловую обработку сливок. Она должна обеспечить полное уничтожение патогенных м/о и максимально уничтожить вносимую микрофлору. Выбор режима зависит от свойства исходных сливок. Сливки 1-го сорта для производства сладкосливочного масла пастеризуют при температуре 85-90ºС в весенне-летний период и до 90-95 ºС в осенне-зимний период с выдержкой 15-20сек. Сливки второго сорта пастеризуют при температуре 92-95ºС летом и 101-103 ºС зимой.

***Технологическая схема производства сливочного масла методом сбивания*** *Схема производства:* приёмка–очистка – охлаждение – резервирование ( 4 – 5оС ) сепарирование молока и получение сливок –пастеризация сливок - подготовка сливок к сбиванию (охлажде-е и созревание) летом 4-6оС не менее 5ч, зимой 5-7оС не менее 7ч– сбивание сливок и получение масляного зерна(12-14оС, 30-40 мин) – промывка зерна – его обработка – фасовка, хранение, транспортировка.**Цель созревания:**перевести в кристал-оесост-е 1/3 часть жира,по мере затвердевания сниж-ся прочность оболочек они стан-ся тоньше и далее идёт сбивание.Поскольку прочность оболочек расслаблена при механ-ом воздей-ии идёт их разруш-е,жир вытекает и обр-ся масса. t сбивания весной ниже 8-11оС,в осенне зимнее ниже 11оС, продолжить-ть 30-35 минут. При повыш-ой tбудет происходить плавление жираи он переходит в пахту, если t низкая то не будет образов-ться масляное зерно. В аппаратах маслоизготовителях ведут промывку водой если сливки плохого качества и идёт дальнейшая обработка. При прои-ве Вологодского масла промывку не проводят. Промывка масляного зерна проводят для для удаления пахты, части запахов, привкусов и для охлаждения. t промывной воды при норм-ой консист-ии зерна = t конца сбиванияю. Вода должна соответствовать требованиям питьевой воды, в начале из аппарата удаляют пахту и добавляют воду в количестве 30-60% от массы сливок, применяют 2-х, 3-х кратную промывку. Температуру подбирают, чтобы получить хорошую консистенцию масла. Первую промывку ведут при температуре 12 ºС, вторую на 2 ºС меньше, а при мягком зерне температуру понижают ещё на 2 ºС. При грубом зерне используют температуру на 2 ºС выше, чем в конце взбивания.При хранеиимасла,промывка снижает стойкость при хранении,,т.к ускоряет гидролитические процессы, а при хранении 0 – 6С имеет полож-оезнач-е,т.к м-мы удаляются и привкусы. При хранении масла при повышенной температуре промывка имеет значение, так как в масле уменьшается содержание м/о.

***Технология производства масла методом преобразования высокожирных сливок.*** Масло получают путём сепариро-я сливок и преобраз-я их в масло, путём термомех-ой об-ки.Приёмка и сортировка сырья – сепарирование молока и получение сливок – пастеризация – сепарирование сливок и получение высокожирных сливок, образуется пахта, жирностью 0,3 – 0,5% - нормализация высокожирных сливок – преобразование высокожирных сливок в масло в маслообразователях – упаковка и хранение.После получ-я сливок их пастер-ют и сепар-ют t не менее 90% и получают высокожирные сливки. Здесь же обр-ся пахта жирн-ю 0,3-0,5%. Сливки с такой же жирностью или больше чем в готовом продукте. В крестьянском72,5%; влаги более 25%. Поэтому получают сливки 73-74%. Нормализ-ю ведут по соде-ю влаги в термоизолированных ёмкостях. Норм-ют либо пахтой, либо обезжир-м молоком, либо цельным М, либо сливками меньшей жирности. Высокожирные сливки отправляют в маслоизготовитель пластинчатого или цилиндрического типа. Внутри аппарата имеется хладоноситель (ледяная вода 1-2оС или рассол) сливки послед-но проходят через 3 цилиндра. Первоначально идёт разное охлаждение от t 70-75% до 20-22оС в 1-ом цилиндре, продж-ть всего процесса около 40 мин и сливки перемешивают, наблюд-сякристализациямолочногомолочного жира от 30 до 50%. Особая связь между жиром и оболочками жировых шариков,оболочки стан-ся тоньше. Механического перемешивание ведёт к их разрушению и жидкий жир вытекает.Происходит обращ-е фаз,т.еимульсия жир в воде превращ-ся вода в жире. Для окончат-го перемешивания продукт пропускат через диспергатор и получ-ся, что капельги влаги измельчаются оптим-аяt масла на выходе 14 до 18 ºС.Продолж-ть наполнения ящика 2 мин+- 10 сек.И затем коробки охлаждают масло до 2-4 ºС в холодильных камерах,где продолжается кристал-ся.

112.Безотходная технология: общие понятия и определения.

Безотходная технология – принцип функционирования производства, при котором рационально используются все компоненты сырья и энергия в цикле: первичные сырьевые ресурсы – производство – потребление – вторичные

сырьевые ресурсы и не нарушается экономическое равновесие.

Основой безотходной технологии является комплексная переработка сырья с использованием всех его компонентов, так как отходы производства – это неиспользованные части сырья. Но главное не переработка, а создание таких процессов, в которых все компоненты переработанного сырья используются разумно.

Малоотходные технологии – промежуточная ступень при создании безотходного производства.Малоотходным - производство, в результате практической деятельности которого вредное воздействие на окружающую среду не превышает уровня, допустимого саннормами, но по определённым причинам часть сырья переходит в отходы и направляется на захранение или длительное хранение.

Безотходная технология решает 2 задачи:

- Поднимает экономичность производства, делает его рентабельным;

- Решает экологическую проблему

В безотходной технологии сначала подбирают микроорганизмы, которые способны образовывать полезные продукты, затем их используют для переработки отходов.

**Основные направления:**

1 Выработка ферментативных препаратов, биорегуляторов, лекарств, новых продуктов питания, подсластителей, препаратов для животных и растений.

2 Рассмотрение отходов производств производств, их химического состава, путей их использования.

Большое внимание уделяется биодеградации, биоконверсии.

Биодеградация – утилизация, расщепление ненужного, часто экологически вредного сырья с помощью живых микроорганизмов.

Биоконверсия – получение на основе сырья новых продуктов с помощью живых организмов. Необходимо, чтобы процессы шли вместе. В Японии, Индии внедряются перерабатывающие отходы сине-зелёные водоросли. Они избавляются от отходов, получают биосырьё с высоким содержанием белка (на корм животным), биогаз, обогащённый метанолом.

Каждое биотехнологическое предприятие выпускает основную продукцию, на которую существует перечень, цена, стандарты (молоко, мясопродукты). Основное сырьё – сырьё из которого получают основную продукцию с применением дополнительных материалов:

**Отходы:** 1. Собственно отходы. 2. Обычные отходы производства.

**Вторичные материальные отходы –** отходы производства и потребления, которые образуются в народном хозяйстве. В группу вторичных материальных ресурсов все отходы не входят.

**Собственно отходы производства –** остатки сырья, материалов, полуфабрикатов, образующиеся при производстве продукции или выполнения работ и утратившие полностью или частично исходные потребительские свойства. Они могут быть использованы в качестве сырья на других предприятиях или как добавка в производстве новой продукции.

В группу вторичных материальных ресурсов входят:

-побочная и попутная продукция (получившаяся в процессе производства параллельно с основной продукцией или в процессе дополнительной промышленной обработке отходов).

В группу вторичных материальных ресурсов не входят:-возвратные отходы- неизбежные технические потери- отбросы производства

**Побочные продукты**, образуются в процессе переработки сырья наряду с основной продукцией, но не являются главной целью производства. Они могут быть использованы как готовая продукция, без доработок, на них существуют ГОСТы, их выпуск планируется, обладают товарной стоимостью (меласса, патока, сухой жом, казеин, СО2).**Возвратные отходы –** отходы, которые повторно используются в производстве в виде добавок к основному сырью (молочная сыворотка и пахта для нормализации молока).Они не нормируются, на них нет ГОСТов. Сюда входят неизбежные технологические потери, но они строго нормируются.

**Отбросы производства –** отходы, которые не используются или технологическая переработка их нерентабельна (шлам, сточные воды, газовые выбросы, утиль).

113.Безотходная технология молочной промышленности.

Цель безотходного производства в молочной промышленности – максимальное использование всех макро и микрокомпонентов молока для изготовления молочной продукции. На заводах отсутствует замкнутый производственный цикл. Сброс 1 тонны сыворотки в водоёмы идентичен сбросу бытовых вод города с 70 тыс. населения.

Основными и наиболее ценными компонентами вторичного молочного сырья являются белки, углеводы и молочный жир. Кроме основных – минеральные соли, небелковые азотистые компоненты, витамины, ферменты, гормоны, иммунные тела, органические вещества.

- молочный жир, его особенность для вторичного молочного сырья – высокая степень дисперсности, размер жировых шариков от половины до 1 мкм, как следствие – лёгкое эмульгирование и усвояемость до 96%.

- Пахта содержит фосфотиды (летицин, кефалин, сфингомиелин и стерины).

- К белковым азотным соединениям относятся казеин, лактоальбумин, лактоглобулин, эуглобин, псевдоглобулин.

Основной белок молока и обезжиренного молока – казеин.

В сыворотке содержатся сывороточные белки – альбумин и глобулин (содержат все необходимые аминокислоты), а некоторые незаменимые аминокислоты, например лейцин, изолейцин, метионин, лизин, трионин и триптофан представлены в белковой сыворотке даже в большем количестве, чем в казеине.

Во вторичном молочном сырье (особенно в сыворотке) небелковое азотистое вещество – мочевина, пуриновое основание, т.е. продукт распада нуклеиновых кислот.

Углеводы молочного сахара и продукты его распада – глюкоза и галактоза. Усвоение молочного сахара до 90%, а его медленное расщепление способствует поддержанию жизнедеятельности молочно-кислых микроорганизмов в кишечнике.

Минеральные вещества – органические и неорганические соединения. В сыворотке минеральных веществ меньше, чем в пахте и обезжиренном молоке, что обусловлено их переходом в основной продукт (сыр, творог, казеин).

Органические кислоты – лимонная, молочная, нуклеиновые.

Витамины (С и В группы) и А, Д и Е группы при тепловой обработке разрушаются. Энергетическая ценность обезжиренного молока и пахты в 2 раза меньше, чем цельного молока, а с молочной сывороткой около 3-х раз меньше.

Обезжиренная молочная сыворотка и пахта давно стали распространёнными лечебными продуктами.

Пахта, творог и изделия из него для питания пожилых людей при профилактике атеросклероза, сердечно-сосудистых заболеваний, ишемической болезни сердца.

Обезжиренное молоко и сыворотку принимают как средство при лечении заболеваний желудочно-кишечного тракта, сахарного диабета, ожерении

В процессе сепарирования молока на сепараторах сливкоотделителях получают сливки и обезжиренное молоко. Выход обезжиренного молока около 90% от массы сепарируемого молока. Содержание жира не должно превышать 0,05%. Молоко обезжиренное в отличие от цельного имеет белый цвет со слегка синеватым оттенком. В связи с малым содержанием жира, плотность молока обезжиренного меньше плотности цельного (1029 – 1033 кг/м3), кислотность 17-21ºТ. Обезжиренное молоко отличается от цельного большим содержанием сухого молочного остатка, т.е. соотношение между жировой и нежировой частями. Содержание сухих веществ от 8,2 до 9,5%, белок 2,7-3,7%, лактозы 3,9-4,9%, минеральные вещества около 0,7%.

Пахта образуется на стадии сбивания или сепарирования сливок при производстве масла и представляет собой жидкую несбиваемую часть сливок.

Различают:

- пахту, полученную методом сбивания сливок на маслоизготовителях периодического и непрерывного действия

- полученную методом преобразования высокожирных сливок

- полученную при производстве сладко- и кислосливочного масла.

Состав пахты, %

Жир 0,2-0,5; сухое вещество 7,5-9,1; белок 2,9-3,2; лактоза 4-4,7%; минеральные вещества 0,5-0,7%; кислотность 16-18ºТ; плотность 1028 – 1033 кг/м3.

В пахте в 2 раза больше фосфолипидов, чем в сливочном масле; они принимают участие в нормализации жирового и белкового обмена. В виде глицерофосфолипидов (встречаются в мембране) способствуют окислению и всасыванию жирных кислот, повышают каталитическую активность некоторых ферментов. Достаточно высокое их содержание в продуктах способствует накоплению в организме белка, а их недостаток приводит к отложению жира.

В пахте фосфолипиды находятся в активной форме, так как связаны с белками.

При выработке масла большая часть летучих жирных кислот переходит в пахту и она их содержит в 2 раза больше, чем масло. Содержит в 2 раза больше уксусной кислоты , а в масле больше молочной, поэтому целесообразно использовать максимально пахту для пищевых целей.

Молочная сыворотка – побочный продукт при производстве творожного, казеинового сырья:

- подсырная сыворотка

- творожная сыворотка

- казеиновая сыворотка

В сыворотку переходит около 50 % сухих веществ молока. Молочная сыворотка – однородная жидкость зеленоватого цвета, допускается наличие белкового остатка. Вкус и запах чистые – свойственные молочной сыворотке. Для казеиновой и творожной – кисловатый вкус; для подсырной – от солоноватого до солёного. Плотность 1022 – 1027 кг/м3. Норма выхода с учётом потерь в % от переработанного сырья:

- сыры натуральные и творог – 80%- сыры обезжиренные, низкожирные и брынза – 65%- казеин – 75%

Основной компонент сухих веществ в сыворотке – лактоза более 70%.

В молочной сыворотке содержится 0,135% азота, около 65% входит в состав белков, а остальные – в небелковые азотсодержащие соединения.

Содержание белковых азотистых веществ от 0,5 до 0,8% зависит от способа коагуляции белков. В творожной сыворотке содержится в 3,5 раза больше свободных аминокислот и в 7 раз больше незаменимых аминокислот чем в сырах (так как более глубокий гидролиз белков молока).

В творожной сыворотке содержится до 1,6% глюкозы, что обусловлено гидролизом лактозы при производстве творога; жира от 0,05 до 0,5%.

В молочную сыворотку переходят все соли и микроэлементы молока, а также дополнительные соли. В сыворотку почти полностью переходят водорастворимые витамины. В подсырной витаминов больше, чем в творожной. Из-за жизнедеятельности молочно-кислых бактерий в сыворотке много перидоксина, рибофлавина. В подсырной сыворотке есть сычужный фермент. При производстве солёных сыров в сыворотке содержание соли достигает 0,5 – 2,3 %.

Более половины материальных ресурсов молочной промышленности, используются на кормовые цели. Для полного использования необходимо вводить новые технологии обработки (ультрафильтрация, диализ, обратный осмос, ферментная обработка).

В последние годы резко повысилось использование обезжиренного молока и пахты на выработку заменителей цельного молока, так как есть тенденция увеличения спроса на молочную продукцию с пониженным содержанием жира. Возрастание использования обезжиренного молока и пахты на нормализацию молочных продуктов.

В хлебопечении используют вторичное молочное сырьё в сухом виде. Например, при производят детские булочки «Колобок» с 20% содержанием сухого обезжиренного молока. Они отличаются повышенным содержанием белков с сбалансированным аминокислотным составом.

Обезжиренное молоко добавляют в колбасные изделия. До последнего времени для обогащения продуктов применялось сухое обезжиренное молоко, но оно содержит до 50% лактозы и около 30% белка, поэтому более целесообразно использовать молочнобелковые концентраты с содержанием белка до 90%. Почти весь казеинат натрия используется в мясной промышленности. При этом экономится мясо и сохраняется пищевая ценность. Применяются белковые конценраты при производстве маргарина, так как растворимые казеинаты образуют с жиром стойкие эмульсии, хорошо связывающие воду.

Молочную сыворотку направляют на производство молочного сахара, сгущают, вырабатывают белковую и сырную массу, напитки, хлеб с полноц.белком.

114.Безотходная технология сахарной промышленности.

2 осн произ-ва: свеклосах и сахарорафинадная, сах заводы кроме осн продукции (сах песок и рафинад) дают бол кол-во побоч продуктов и отходов: сырой свеклович жом – отх; сух жом – побоч прод; меласса – побоч; рафинад патока – побоч; фильтрац осадок – отх произ; жомопрессов вода – возврат отх; промыв вода – отбросы произ. Свекловичный жом – обессах-ая свекл-ая стружка, кот остается после извле-чения из нее сахара диффуз-ым спос-м. Выход свежего неот-жатого жома 83% от массы свеклы. Сод-е сух в-в 65%. Далее его пресуют в нем сниж-ся сод-е воды и увел-ся сод сух в-в. Жом бывает свежий не отжатый, пресов-ый. Он исп-ся в хоз-ве полностью и явл ценным кормом: клетчатка сост из нелег-ой целлюлозы, пектин в-ва жома распад-ся при гидролизе до манноз. Недостаток: малое сод-е белка. В посл годы его подверг консерв-ю и обогащ-ю. Бардяной жом получ путем высуш-я смеси отжатого жомаи сгущенной последрожжевой барды, добавл-е барды увелич-ет сод-е сырого протеина. Амидоминеральный жом готовят на основе сух жома с добавл-ем мелассы, кормовых фосфатов, солейСо,Zn,Cu.Меласса – густая сиропообр-ая жид корич цвета, сладкого вкуса с горьким привк, хор растворима в воде. По хим сот: конц р-р сахарозы, из кот по техн-ой схеме сахарозу выделить нельзя. Она сод-т 82% сух в-в (схарозы до 48%, несахаров 33%), воды 18%. В состав несахаров входят неорг несахара: соли К, Na, Ca,Mg,Fe, аммоний, фосфаты, нитраты. Орг несахара: ябл, мол, укс. N-е несахара: а/к-ты, белки… Углеводы: рафиноза, пектиновые в-ва. Микроэл-ты: Co, Mn, Mo, немного жира. Фильтрованный осадок (дефекат) обр-ся в пр-се очистки диф-го сока. Он сост из углекислого Cа, в его сот входят сахар, пектин в-ва, безазотистые орг в-ва, азотистые орг в-ва,. Его исп-ют в с/х для подщелач-я кислых почв и отпускается бесплатно. Рафинадная патока – обр-ся при центриф-ии конечного прод-та и сод-т не менее 95% сахарозы. Исп в кондит пром. Свекловичный жом и хвостики свеклы: обр-ся в моечном отделе, их кол-во 3% от массы свеклы. Скармливают скоту, дробят и сушат, смеш-ют с жомом.

115.Безотходная технология спиртовой промышленности.

Спирт пром-ть выпускает этиловый спирт, к-рый поступает на нужды пищ, медицинской, фармацевтич отрасли. Уровень использ-ния сырья 75-90%. Осн сырье – зерно, картофель, меласса. Отходы – барда (зернокартофельная барда на корм, для производства корм дрожжей; последрож-ая барда на орошение полей для удобрения и получ корм вит В12);углекислый газ брожения на произ-во жид углекислоты и сух льда; дрожжи, к-ые перераб на спирт пред-ях. Побочные продукты: сивушные масла, эфироальдегидная фракция. Зернокарт барда – в процессе перегонки бражки, на конеч ст спирт произ-ва при перераб крахмального сырья только 33% сух в-в превр в спирт, столько же переходит в СО2 и столько же остается в барде. Барда содержит все пит в-ва, сух в-в 4-8% (т.к. брож-е в вод среде); азотист в-ва (белки, аминокис-ты); безазотистые (углеводы, декстрины, моносахара, крахмал, клетчатка, пектин в-ва); ph 4,2; сод-ит вит гр В. Барда – явл-ся белк кормом, хор средой для выращив м/о продуцентов белка и вит. При выращив-ии крм дрожжей на зернокартофел барде обр-ся отход – вторичная барда, в ней в 2 р> вит гр В, чем в натур барде и она идет на корм скоту. Выход барды на 1ДКЛ спирта 13,5 ДКлитров. В свежем виде исп-ть барду затруднено из-за бол содер-я воды, хранение приводит закисл-ю и распаду белков (упарив-е и сушка). Произ-во сух корм дрожжей. Барду исп-ют для получ корм белков или белк корм-х концентратов. Горяч зернокартоф барду подают на разделит сито, где отд-ют дробину, фильтруют, охлаж-ют до 27-30 С и направ-ют в дрожерастит чан, куда добав-ют маточ др и пит соли. После выращ-я дрожжи отд-ся на сепараторе, фугат (жид-ть) смеш-ют с дробиной и обр-ся 2-ая барда (70-72% от исход). Корм др содер-ат до 54% сырого белка. Разраб схема получ-я корм др без отделения дробины и получ 2-ой барды: в натур барду доб-ют азотистое питание (сернокисл аммоний, мочевина), др выращ-ют, получ дрож кул-ра сушится вместе с дроб и отпускается как корм др., можно сушить зерн барду (без добав др) и добав-ть в комбикорма. Перераб мелассной барды. Ёе не испол-ют на корм цели, не реализуют, нельзя спускать в водоемы. Строят цеха попроиз-ву сух корм др, глутамин к-ты из меласс барды. Горяч меласс барду охл-ют и вводят в дрожерастит чан, куда доб-ют маточ др (выращ из чист кул-ры), пеногасители, р-р пит солей. Выращ др направ-ют в дезомульгатор, пропускают ч/з сепараторы, дрож суспензию направ на сгущение, при этом обр-ся 2-ая последрож барда + выпары + оттоки от сепаратора. Дрожжи сушат, фасуют, реализуют. Сух в-в в барде освобож-ой от др 6-10%, содер-ся много азота и после упарив-я ее исп-ют в кач-ве добавки к кормам. Из спирт бражки выд-ют др сахоромицеты и делают из них х/пекар дрожжи. Последрож меласс барду исп-ют: в натур виде для удобрения и орошения земель; ее сгущ-ют до 50% сух в-, в цемент пром, в проз-ве строит мат-ов. Углекислый газ брожения выд-ся на стадии брожения. Теорит вых – 1/3 от перераб сырья, практич вых ниже и зависит от способа сбраживания: при периодич брож углек газ смеш-ся с возд и при произ-ве жид углекис-ты исп-ся 70% общ выхода; при непрерыв сп газ не смеш-ся с возд и почти полностью утилизир-ся для получ углек-ты, к-ая исп-ся в пищ пром (для приготов газирован напитков, хранения мяса, овощей), получ-е сух льда. Сивушные масла – побоч продукт спирт брож-я, обр-ся под влиянием ж/деятел-ти дрож, с образ-ем высших спиртов. Спирт-сырец, содержит многочисл примеси разл.хим природы. 3 гр: 1) головные (эфироальд фр) 2) хвост (сивуш) 3) промежут. Хвост прим: более выс t кип, чем этил спирт и меньшую летучесть; часть примесей нераст в воде и имеет маслянист вид. Состав: многоатомные сприты (амилов, изоамилов, бутил, изобутил, пропил, изопропил), слож эфиры; в состав масел вх этил спирт и вода. Стоймость сив масел> чем этил спирта; выход из спирта-сырца 0,35%. Из сив масел извлек высш спирты, важно произ-во изоамилов спирта для получ душистых в-в для парфюмерии и синтеза фруктов исенции, к-е исп-ют в кондитер, ликероводоч пром. Эфироальдегид фр – головная фр; крепость 94-95%, в осн состоит из спирта, определяющ примесь метанол 5%; содержит эфиры и альдегиды.

116.Основы санитарно-гигиенического и микробиологического контроля в биотехнологической промышленности.

Санитарно- показательные микроорганизмы. Быстрое и непосредственное обнаружение в объектах внешней среды (воде, воздухе, пищевых продуктах) патогенных микроорганизмов осуществить очень трудно, так как их количество ничтожно мало по сравнению с сапрофитной микрофлорой исследуемых объектов. Поэтому возможное загрязнение их патогенными микроорганизмами определяют косвенно - на основании количественного и качественного учета санитарно - показательных микроорганизмов.

К санитарно - показательным микроорганизмам относятся кишечная палочка, гемолитические (растворяющие эритроциты крови) стрептококки и стафилококки. Они являются постоянными обитателями естественных полостей тела человека и животных (кишечника, слизистых оболочек полости рта и верхних дыхательных путей). Присутствие санитарно - показательных микроорганизмов в объектах внешней среды указывает на загрязненность их выделениями человеческого организма, а, следовательно, и возможность наличия в них соответствующих патогенных микроорганизмов.

Кишечная палочка (Еscherichia coli). Название связано с именем ученого Эшериха, впервые выделившего ее из испражнений человека, и латинского слова «колон » (кишка). Она является постоянным обитателем толстых кишок, безвредна для человека. Она является показателем фекального загрязнения воды и пищевых продуктов, т. е. выделениями кишечника человека, что свидетельствует о возможном наличии возбудителей тяжелых кишечных заболеваний (дизентерии, брюшного тифа, паратифов и т. п.), которые выделяются из больного организма, или носителем инфекции во внешнюю среду (также с фекалиями). Для санитарно-гигиенической оценки воды, пищевых продуктов и других объектов необходимо не только установить наличие в них кишечной палочки, но в ряде случаев провести количественный учет этих бактерий.

Интенсивность фекального загрязнения характеризуется двумя микробиологическими показателями: коли-титром и коли-индексом.

Коли-титр - наименьшее количество исследуемого материала (объем, масса), в котором обнаруживается одна кишечная палочка. Чем меньше величина коли-титра, тем опаснее данный объект в эпидемиологическом отношении.

Коли-индекс - это количество кишечных палочек в единице объема (массы) исследуемого вещества.

Гемолитические стрептококки и стафилококки. Эти постоянно обитающие па слизистых оболочках полости рта и верхних дыхательных путей микроорганизмы также являются санитарно-показательными. Их наличие указывает на обсемененность воздушной среды и некоторых продуктов микрофлорой дыхательных путей, среди которой могут быть возбудители ангины, коклюша, туберкулеза и др., попадающие туда при кашле, чихании и пр.

Чем больше количество санитарно - показательных микроорганизмов в исследуемом объекте, тем больше он загрязнен выделениями человеческого организма и тем вероятнее, что в нем содержатся патогенные микроорганизмы - возбудители инфекционных заболеваний.

Микробиологический и санитарно-гигиенический контроль. Задачей микробиологического контроля является возможно быстрое обнаружение и выявление путей проникновения микроорганизмов - вредителей в производство, очагов и степени размножения их на отдельных этапах технологического процесса; предотвращение развития посторонней микрофлоры путем использования различных профилактических мероприятий; активное уничтожение ее путем дезинфекции с целью получения высококачественной готовой продукции.

Микробиологический контроль должен проводиться заводскими лабораториями систематически. Он осуществляется на всех этапах технологического процесса, начиная с сырья и кончая готовым продуктом, на основании государственных стандартов (ГОСТ), технических условий (ТУ), инструкций, правил, методических указаний и другой нормативной документации, разработанной для каждой отрасли пищевой промышленности. Для отдельных пищевых производств имеются свои схемы микробиологического контроля, в которых определены объекты контроля, точки отбора проб, периодичность контроля, указываются, какой микробиологический показатель необходимо определить, приводятся нормы допустимой общей бактериальной обсемененности.

Микробиологический контроль будет действенным и будет способствовать значительному улучшению работы предприятия, только если он сочетается с санитарно - гигиеническим контролем, назначение которого - обнаружение патогенных микроорганизмов. Они обнаруживаются по содержанию кишечной палочки. Санитарно - гигиенический контроль включает проверку чистоты воды, воздуха производственных помещений, пищевых продуктов, санитарного состояния технологического оборудования, инвентаря, тары, гигиенического состояния обслуживающего персонала (чистоты рук, одежды и т. п.). Он осуществляется как микробиологической лабораторией предприятия, так и санитарно-эпидемиологическими станциями по методикам, утвержденным Министерством здравоохранения.

В пищевых производствах, основанных на жизнедеятельности микроорганизмов, необходим систематический микробиологический контроль за чистотой производственной культуры, условиями ее хранения, разведения и т. д. Посторонние микроорганизмы в производственной культуре выявляют путем микроскопирования и посевов на различные питательные среды. Микробиологический контроль производственной культуры, кроме проверки биологической чистоты, включает также определение ее физиологического состояния, биохимической активности, наличия производственно - ценных свойств, скорости размножения и т.п. В тех пищевых производствах, где применяются ферментные препараты, также обязателен микробиологический контроль их активности и биологической чистоты.

117.Санитарно-микробиологический контроль в молочной промышленности.

Пробы для микробиологических испытаний от продукции, попавшей в выборку, отбирают до отбора проб, предназначенных для органолептических и физико-химических анализов.Для анализа продукции по микробиологическим показателям используют в качестве пробы для анализа по одной единице потребительской тары с продукцией.

Если масса нетто одной единицы потребительской тары менее массы пробы, необходимой для проведения микробиологических испытаний, то количество единиц потребительской тары увеличивают до достижения необходимой массы или объема пробы.

На предприятии осматривают тару на чистоту, целостность проб, правильность наполнения, затем в каждой секции молоко перемешивают, измеряют температуру и отбирают пробу для определения микробиологических, органолептических и физико-химических показателей. Молоко должно быть доставлено при температуре 6-8°С, должно иметь санитарно-ветеринарную справку.

Органолептические показатели определяют в сыром молоке, а вкус после кипячения.

Физико-химические показатели: жир, титруемая кислотность, плотность, степень чистоты определяют ежедневно.

Микробиологические показатели: бактериальная обсеменённость, проба на ингибирующие вещества определяют один раз в 10 дней.

По ГОСТу молоко делят на первый, второй, высший сорт и не сортовое.

Не подлежит приёмке стародойное молоко и молозево с наличием консервирующих, ингибирующих и нейтрализующих веществ, с запахом химикатов или нефтепродуктов, лука, чеснока, полыни с погорклым вкусом, запахом. Молоко с плотностью 1026 кг/м3, кислотностью 15-21°Т принимают вторым сортом на основании стойловой пробы (не реже раза в 14 дней).

Приёмка осуществляется по массовой доли жира (не меньше3,4%), иногда белка (не менее 3%). Для выработки стерилизованных продуктов в каждой партии молока определяют по алкогольной пробе, термоустойчивость не ниже 2-й группы.

Для производства сыра дополнительно делают сычужно-бродильную пробу (не ниже 2-го класса).

Для сычужных сыров используют молоко высшего и 1-г сорта, с содержанием не более 500 тыс. соматических клеток в 1 мл.

Для сыров с низкой температурой 2-го нагревании с содержанием маслянокислых бактерий или их спор не более 10. Для сыров с высокой температурой нагревания не более 2 в 1 мл.

После проверки качества молоко взвешивают и направляют на хранение.

Принятое молоко очищают путем фильтрации на установке для очистки молока или центробежном молокоочистителе.

**Приёмку проводит приёмщик или мастер с участием лаборанта в присутствии сдатчика. Приёмка от одного сдатчика длится не более 40 ми-нут. Доставка молока на завод осуществляется по графику.**

Работа приёмного цеха и работа других цехов начинается за 30 ми-нут до начала работы аппаратного цеха.

**Приёмка молока включает в себя следующие операции:**

- знакомство с сопроводительной накладной;

- осмотр тары;

- вскрытие тары и перемешивание молока;

- определение органолептических показателей;

- определение температуры;

- отбор средней пробы;

- проведение анализов;

- сортировка молока;

- определение массы молока;

- оформление приёмных документов.

В приёмном цехе устанавливается следующее оборудование: насосы для перекачивания молока, трубопроводы, счетчики, охладители, резер-вуары.

**Молоко и сливки сырье**

Для проведения редуктазной пробы из объединенной пробы молока выделяют пробу объемом 50-60 см.

Объединенную пробу сливок-сырья в размере 0,5 или 0,25 дм составляют из точечных проб, отобранных из каждой фляги или цистерны после органолептической оценки и определения кислотности титриметрическим методом

**Молоко и сливки пастеризованные, кисломолочные и сквашенные продукты (жидкие)**

От продукции в транспортной таре, попавшей в выборку, стерильным черпаком или мутовкой после тщательного перемешивания отбирают 50-60 см продукта в стерильную посуду и закрывают стерильной пробкой.

Продукцию в потребительской таре (бутылках, пакетах и т.д.) перед отбором проб перемешивают пятикратным переворачиванием. Продукцию, которую нет возможности перемешать вышеописанным способом, следует перемешивать после вскрытия упаковочной единицы стерильным шпателем. После перемешивания необходимое для исследования количество продукта (не менее 15-20 см) отбирают стерильной пипеткой и помещают в стерильную посуду, которую затем закрывают стерильной пробкой.

**Творог, творожные изделия, альбуминные и сырные пасты, домашний сыр**

В продукции, попавшей в выборку в транспортной таре, перед отбором пробы верхний слой продукта зачищают. Пробу отбирают стерильным щупом на расстоянии 3-5 см от края, направляя щуп наклонно к противоположной стороне и опуская на 3/4 его длины. Из столбика продукта на щупе отбирают стерильным шпателем не менее 15-20 г продукта и помещают в стерильную посуду, которую закрывают стерильной пробкой.

От продукции, попавшей в выборку в потребительской таре, отбирают для анализа не менее 15-20 г (включая и поверхностный слой). Отобранную пробу помещают в стерильную посуду, которую закрывают стерильной пробкой.

**Масло из коровьего молока, масляная паста, молочный жир, спреды и смеси топленые, сливки пластические**

От продукции, попавшей в выборку в транспортной таре, пробу отбирают стерильным щупом на расстоянии 3-5 см от края, направляя щуп к противоположной стороне и опуская на 3/4 его длины.

Из столбика масла на щупе отбирают стерильным шпателем 15-20 г продукта и помещают в стерильную посуду. Оставшийся после отбора пробы столбик продукта на щупе возвращают на прежнее место, а поверхность масла аккуратно заделывают.

От продукции, попавшей в выборку в потребительской таре, отбирают для анализа стерильным шпателем 15-20 г (включая поверхностный слой).

Отобранную пробу помещают в стерильную посуду, которую закрывают стерильной пробкой.

**Сыр и сырные продукты**

В продукции, попавшей в выборку, в намеченном месте отбора пробы поверхность сыра прижигают нагретым ножом или шпателем. Стерильный щуп вводят наклонно в середину головки на 3/4 его длины. Из столбика сыра на щупе отбирают стерильным шпателем 15-20 г сыра и помещают в стерильную посуду с притертой или ватной пробкой или стерильную чашку Петри с крышкой. Верхнюю часть столбика сыра со щупа возвращают на прежнее место, поверхность сыра заливают подогретым до (110±10) °С парафином или иным разрешенным для контакта с молочными продуктами материалом или оплавляют нагретым шпателем.

Сыр и сырные продукты, созревающие в полимерных материалах, после отбора проб подлежат повторному упаковыванию.

**Сыр плавленый и плавленые сырные продукты**

От продукции, попавшей в выборку, из разных мест продукта (включая поверхностный слой) стерильным шпателем или ланцетом отбирают на анализ 15-20 г продукта и помещают в стерильную посуду, которую стерильно закрывают.

**Сгущенные продукты**

От продукции в транспортной таре, попавшей в выборку, стерильной трубкой или черпаком отбирают на анализ 40-50 г продукта в стерильную посуду, которую стерильно закрывают.

От сгущенных молочных продуктов в потребительской таре пробу отбирают стерильным пробником, щупом или ложкой после вскрытия тары.

**Сухие продукты**

От продукции в транспортной таре, попавшей в выборку, отбирают на анализ 40-50 г продукта в стерильную посуду с плотно закрывающейся стерильной крышкой или пробкой.

От сухих молочных продуктов в потребительской таре после ее вскрытия отбирают стерильным пробником, щупом или ложкой 40-50 г продукта, помещают в стерильную посуду с плотно закрывающейся стерильной крышкой или пробкой. Стерилизованные продуктыВ продукции, попавшей в выборку, анализы проводят отдельно в каждой банке, бутылке или пакете.

**Маркирование, хранение и транспортирование проб**

**Посуду с пробой, отобранной при контроле технологического процесса, маркируют с указанием:**

- места отбора проб;- наименования сырья, полуфабриката, продукта;- номера пробы;- дня (часа) отбора пробы.

**Пробы, предназначенные для контроля на предприятии, маркируют с указанием**:

- поставщика (при контроле молочного сырья);- наименования продукта;- номера пробы;- дня (часа) отбора пробы.

**Пробу, отправляемую в лабораторию вне данного предприятия, пломбируют или опечатывают, снабжают этикеткой и актом отбора проб, в которых указывают**: - номер пробы;

- наименование предприятия-изготовителя;- наименование и сорт продукта (при наличии);- номер и объем партии;- дату и час выработки продукта с момента окончания технологического процесса;- дату и час отбора проб;- должность и подпись лица, отобравшего пробу;- объем необходимых анализов;- обозначение документа, в соответствии с которым изготовлен и может быть идентифицирован продукт.

**Микробиологические анализы продукта проводят не более чем через 4 ч с момента отбора проб.Пробы должны храниться и транспортироваться до начала исследования в условиях, обеспечивающих температуру продуктов не выше 6 °С, не допуская подмораживания.**

**Молоко и сливки сырье**

Отобранные пробы перед исследованием тщательно перемешивают.

**Кисломолочные и сквашенные продукты, закваски**

Отобранные пробы перед исследованием тщательно перемешивают и нейтрализуют. Для этого отбирают стерильной пипеткой 10 см исследуемого продукта или закваски в стерильную пробирку или колбочку и добавляют 1 см стерильного раствора двууглекислого натрия с массовой концентрацией 100 г/дм, содержимое перемешивают.

**Творог, творожные изделия, сыр и сырные продукты, в т.ч. плавленые, альбуминные и сырные пасты, домашний сыр**

10 г продукта взвешивают на стерильном часовом стекле, чашке Петри, в бюксе, переносят в стерильную ступку, прикрытую крышкой от чашки Петри, и тщательно растирают.

Масло из коровьего молока, масляная паста, молочный жир, спреды и смеси топленые, сливки пластические

Перед исследованием пробу расплавляют на водяной бане при температуре 40-45 °С и перемешивают до получения однородной эмульсии.

**Сгущенные продукты**

Банки с продуктом и крышки фляг тщательно промывают щеткой в чистой теплой воде и вытирают.

Перед вскрытием крышку банки, пробку бочки и часть днища вокруг пробки фламбируют.

Открывают банки стерильным консервным ножом, а пробку бочки - пробойником. После вскрытия отверстия банки и бочки немедленно закрывают стерильным пергаментом, профламбированной жестяной крышкой или крышкой чашки Петри. Содержимое банки тщательно перемешивают стерильной ложкой. Затем взвешивают стерильную сухую колбу или другую стерильную посуду и в нее отвешивают 10 г продукта.

**Сухие продукты**

Отобранную пробу тщательно перемешивают стерильной ложкой, взвешивают 10 г продукта на кусочке стерильного пергамента, на чашке Петри, в бюксе, затем взвешенную пробу помещают в стерильную колбу или другую стерильную посуду.

**Приготовление разведений продуктов для посева**

**Перед посевом готовят десятикратные разведения продукта в стерильных растворах хлористого натрия по 4.3.3, лимоннокислого натрия (для сыров) по 4.3.5, фосфатного буфера по 4.3.4 или воды по 4.3.2.2.**

**Приготовленные разведения должны быть использованы в течение 45 мин после их приготовления.**

Из проб молока, сливок, сквашенных напитков из пахты и сыворотки или других продуктов, отбираемых по объему, берут стерильной пипеткой 10 см и вносят в 90 см раствора для разведений. Получают разведение 1:10 (первое разведение).**Отобранные пробы масла, спредов вносят в соответствующие стерильные растворы, подогретые до 40-45 °С.**

**Для посева обычно готовят 3 стерильные чашки Петри и такое же число пробирок с какой-либо плотной питательной средой (в зависимости от поставленной задачи). Затем выбирают те разведения исследуемого материала, которые должны дать десятки, сотни и тысячи колоний соответственно.На крышках чашек Петри предварительно делают надписи восковым карандашом, маркером или др., отражающие следующую информацию:**

**- о материале (продукте), из которого сделан посев;- о соответствующем разведении;- о дате проведения посева.**

Метод определения редуктазы с резазурином

**Сущность метода**

Метод основан на восстановлении резазурина окислительно-восстановительными ферментами, выделяемыми микроорганизмами в молоко. По продолжительности изменения окраски резазурина оценивают бактериальную обсемененность молока-сырья.

**Проведение анализа**

Пробу с резазурином следует проводить не ранее чем через 2 ч после доения (средняя продолжительность бактерицидной фазы неохлажденного молока).

В пробирки наливают по 1 см рабочего раствора резазурина и по 10 см исследуемого молока, закрывают резиновыми пробками и перемешивают путем медленного трехкратного переворачивания пробирок. Пробирки помещают в редуктазник с температурой воды (37±1) °С.

При отсутствии редуктазника можно использовать водяную баню, помещенную в термостат с температурой (37±1) °С.

Вода в редуктазнике или водяной бане после погружения пробирок с молоком должна доходить до уровня жидкости в пробирке или быть немного выше. Температуру (37±1) °С поддерживают в течение всего времени определения.

Пробирки с молоком и резазурином на протяжении анализа должны быть защищены от попадания прямых солнечных лучей (редуктазник должен быть плотно закрыт крышкой).

Время погружения пробирок в редуктазник считают началом анализа.Показания снимают через 1 и 1,5 ч.Появление окрашивания молока в пробирках, исчезающее при встряхивании, не учитывают.

По истечении 1 ч пробирки вынимают из редуктазника. Пробирки с молоком, имеющим окраску от серо-сиреневой до сиреневой со слабым серым оттенком, оставляют в редуктазнике еще на 30 мин.

**Метод определения количества соматических клеток в молоке с применением счетчика соматических клеток**

**Сущность метода**

Метод основан на окрашивании ядер соматических клеток специальным флуоресцентным реагентом. После воздействия света на окрашенное ядро клетки возникает сигнал флуоресценции, регистрируемый в виде изображения. По полученному изображению определяется количество соматических клеток. Результат количества соматических клеток отображается на дисплее прибора.

**Сычужно-бродильная проба**

**Сущность метода**

Метод основан на способности молока-сырья свертываться под действием сычужного фермента, а также микроорганизмов сырого молока способствовать этому процессу за счет сбраживания лактозы и снижения рН. По характеру образовавшегося сгустка оценивают качество молока-сырья на его пригодность для производства сыра.

**Определение кислотообразующей активности (титруемая кислотность)**

**Сущность метода**

Метод основан на нейтрализации кислот, образующихся в результате сбраживания лактозы заквасочными микроорганизмами при развитии их в молоке, раствором гидроокиси натрия в присутствии индикатора фенолфталеина.

**Проведение анализа**

Производственную закваску хорошо размешивают. В колбу вместимостью от 100 до 250 см вносят дистиллированную воду в объеме 20 см и закваску в объеме 10 см, три капли 1% раствора фенолфталеина.

Смесь тщательно перемешивают и титруют 0,1 N раствором гидроокиси натрия до появления слабо-розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин.

**Обработка результатов**

Кислотность, выраженную в градусах Тернера (°Т), находят умножением объема раствора гидроокиси натрия, затраченного на нейтрализацию кислот, содержащихся в закваске, на коэффициент 10.

118.Санитарно-микробиологический контроль в хлебопекарной промышленности.

Лаборатория проводит органолептическую оценку, физико-химический и бактериологический анализ поступающего сырья и готовой продукции. Данные, выявленные при микробиологическом контроле, позволяют своевременно принять меры для корректирования технологического процесса и устранения брака. Несоблюдение санитарных требований и отсутствие санитарного контроля могут привести к появлению на поверхности хлебных изделий бактерий группы кишечной палочки и сопутствующих им патогенных микроорганизмов, вызывающих желудочно-кишечные заболевания у людей.

**Контроль сырья и полуфабрикатов**

Содержание микроорганизмов в муке зависит от их исходного количества в зерновой массе, способов очистки зерна, выхода и сорта муки. В сухой муке (с влажностью не выше 10 %) микроорганизмы находятся в неактивном состоянии. Муку хранят в мешках, ларях и другой таре в чистых, сухих, хорошо вентилируемых помещениях при температуре от 15 до 5 С и относительной влажности воздуха 60–70 %. При длительном хранении муки в нормальных условиях происходит постоянное снижение количества микроорганизмов за счет отмирания аспорогенных видов.

Определение общего количества микроорганизмов в муке. Каждую партию муки, поступившую на завод, вначале исследуют органолептически. Если в муке имеется посторонний запах плесени, кислый или прогорклый вкус, то производят посев разведений муки для определения общего количества микроорганизмов или выявления их отдельных групп. Из партии муки от-бирают среднюю пробу. Из средней пробы отвешивают навеску 10 г и смешивают с 90 мл стерильной воды. Суспензию тщательно встряхивают в течение 5 мин вручную или в специальном лабораторном аппарате. Из полученного разведения муки готовят следующие десятикратные разведения.

Разведение муки 1:100 используют для определения мицелиальных грибов, разведения 1:104 и 1:105 - бактерий. Из каждого разведения параллельно засевают не менее двух чашек Петри.

Высев производят глубинным или поверхностным способом. При глубинном способе 1 см3 соответствующего разведения выливают в пустую стерильную чашку Петри и заливают расплавленным и остуженным до температуры 40–45 С питательным агаром. Содержимое чашек перемешивают осторожным их покачиванием и оставляют на столе до полного застывания агара. При поверхностном способе стерильные чашки заливают расплавленным питательным агаром и дают ему застыть. На поверхность застывшего агара наносят 0,2 или 0,5 см3 необходимого разведения и равномерно распределяют это количество по всей поверхности шпателем Дригальского. Для учета количества бактерий в муке используют мясопептонный агар, для учета мицелиальных грибов - сусловый агар или элективную среду Чапека либо Сабуро.

Определение спорообразующих бактерий в муке. Исследование муки на степень обсемененности ее сенной и картофельной палочками проводят в лаборатории хлебозавода. Для определения наличия спор в муке существуют следующие методы.

1. Микробиологический метод. Отбирают среднюю пробу муки, берут навеску 10 г из средней пробы и размешивают ее в колбе с 90 см3 стерильной воды, получая таким образом разведение 1:10. Подготовленную пробу прогревают в водяной бане при температуре 90–95 °С в течение 10 мин, после чего приготавливают разведение 1:100. Из полученных разведений отбирают пипеткой по 1 см3 и высевают глубинным способом в чашки Петри, которые заливают расплавленным и охлажденным мясопептонным агаром или дрожжевым агаром с 2 % сахарозы (рН среды 7,0–7,2). Посевы выдерживают в термостате при температуре 25–30 °С, затем подсчитывают число выросших колоний споровых палочек с учетом разведения.

При содержании в 1 г до 200 спор бактерий мука считается нормальной, от 200 до 1000 – сомнительного качества, свыше 1000 спор – сильно обсемененной, опасной для производства

2. Метод пробных выпечек (ГОСТ 27669–88). Из исследуемой муки замешивают на дрожжах тесто и изготавливают из него три одинаковых по массе хлебца. После выпечки хлеб охлаждают, заворачивают в увлажненную плотную бумагу и выдерживают в термостате при 37 °С. Через 24 ч один из хлебцев надрезают и отмечают появление признаков порчи. Через каждые последующие 24 ч надрезают второй и третий хлебцы. При наличии признаков порчи через 72 ч мука считается доброкачественной. В случае порчи пробного хлебца через 24 ч мука сильно заражена и допускается в производство с определенными ограничениями.

Есть еще один способ проверки загрязненности муки, основанный на том же принципе, но выпекается один хлеб массой 0,5 кг. Его завертывают в увлажненную бумагу и выдерживают в термостате при 37 °С, производя наблюдения через 24 и 36 ч. Результаты оценивают следующим образом:

1) через 24 ч в хлебе появились признаки порчи (мякиш ослизнился) – сортовая мука допускается только для выпечки мелочи (печенья, баранок, сухарей), обойная мука - только в виде примеси в количестве 10–30 %;

2) через 36 ч появились признаки порчи – при использовании такой муки следует принимать меры предосторожности;

3) через 36 ч признаков порчи не обнаружено – мука пригодна к переработке.

3. Ускоренный биохимический метод (разработан в ГосНИИХП). Метод основан на том, что бактерии вида B. subtilis обладают высокой протеолитической активностью, которую можно выявить при нанесении испытываемого материала на поверхность желатинового слоя фотоматериала. Для повышения чувствительности и точности определения используют специальную питательную среду, в которую вводят испытываемую пробу муки с последующей инкубацией при 37 С в течение 5 ч. Ускоренный метод показал хорошую корреляционную зависимость степени поражения хлеба «картофельной» болезнью от активности разжижения желатина на фотопленке (табл. 7.1).

Определение степени заражения муки спорыньей. К 10 г муки добавляют 20 мл серного эфира, подкисляют добавлением 1 мл 1 %-й серной кислоты. Колбочку осторожно взбалтывают и оставляют в покое на 6–12 ч. После перемешивания содержимое колбы фильтруют через бумажный фильтр. К фильтрату добавляют 2 мл 0,1 %-го раствора Na2CO3 и дают отстояться. Если мука содержит спорынью, раствор соды приобретает фиолетовую окраску, которая начинает проявляться при содержании спорыньи от 0,05 %.

**Контроль прессованных дрожжей**

Микроскопирование. Качество прессованных дрожжей оценивают по величине и однородности клеток и наличию посторонних микроорганизмов в микроскопическом препарате. Одну петлю дрожжей вносят в пробирку с небольшим количеством стерильной воды и размешивают. Каплю полученной суспензии наносят на предметное стекло, смешивают с метиленовым синим, накрывают покровным стеклом и рассматривают под микроскопом с иммерсионным объективом. Определяют морфологическое состояние клеток, процент мертвых клеток, наличие клеток несовершенных дрожжей и бактерий. В хороших дрожжах количество посторонних микроорганизмов не должно превышать 10–15 %.

Определение процентного содержания дрожжей сахаромицетов и посторонних микроорганизмов. Если подъемная сила или стойкость прессованных дрожжей резко снизились, проводят определение их микробиологического состава и степени зараженности посторонними микроорганизмами упрощенным методом (посевом на сусло-агар с мелом) или усложненным методом – посевом на несколько элективных сред для выявления разных групп вредных микробов (метод ЛО ВНИИХП).

Усложненный метод. Из пробы прессованных дрожжей, взятой из середины бруска, берут навеску 1 г и вносят ее в колбу со 100 см3 стерильной воды. После тщательного размешивания из полученного разведения 1:100 делают ряд последующих разведений (103–108). Соответствующие разведения высевают в чашки Петри на указанные в табл. 7.2 питательные среды. Для исследования дрожжевого молока на обнаружение посторонних микроорганизмов начальный объем исследований составляет 2 см3.

После термостатирования чашек с посевами при оптимальной температуре подсчитывают число выросших колоний. Общее количество колоний дрожжей сахаромицетов принимают за 100 % и определяют процентное содержание посторонних дрожжей, мицелиальных грибов, гнилостных, молочнокислых, спорообразующих бактерий и кишечных палочек.

Присутствие в дрожжах бактерий вида Proteus vulgaris определяют методом Шукевича – посевом капли 1-го и 2-го разведений дрожжей в конденсационную воду скошенного мясопептонного агара в пробирках. Посевы ставят в термостат при 37 °С на 24–48 ч. Палочку протея обнаруживают по тонкому полупрозрачному налету, застилающему всю поверхность агара и поднимающемуся по стенке пробирки.

В доброкачественных прессованных дрожжах допускается присутствие посторонних дрожжей не более 30 %, кислотообразующих бактерий – в пределах 15–35 %, гнилостных бактерий и бактерий группы кишечной палочки не должно быть.

**Контроль теста**

В тесте, помимо дрожжей сахаромицетов и молочнокислых бактерий, вносимых с прессованными жидкими дрожжами и заквасками, встречаются посторонние микроорганизмы. Их условно подразделяют на три группы:

1. Микроорганизмы-сапрофиты, не влияющие на процесс брожения теста. К ним относятся микрококки и сарцины, поступающие из муки.

2. Микроорганизмы, нарушающие нормальный ход брожения теста и ухудшающие качество готового хлеба. Это, главным образом, несовершенные грибы родов Candida (C. crusei, C. mycoderma, C. utilis, C. guilliermondi), Torulopsis, а также некоторые виды бактерий – Leuconostoc mesenteroides, Bacillus coagulans. Источниками несовершенных дрожжей являются мука, прессованные дрожжи, молочная сыворотка. Несовершенные грибы понижают мальтазную активность прессованных дрожжей, ухудшают их подъемную силу, конкурируют за питательные вещества с бродильной микрофлорой. В ржаных заквасках, контаминированных грибами рода Candida, появляются неспецифический запах и горьковатый привкус. B. coagulans может вызвать накопление кислоты, образование тягучих сгустков, появление сырного запаха. Leuc. mesenteroides способствует образованию слизи в жидких заквасках с заваркой.

3. Микроорганизмы - вредители, жизнедеятельность которых приводит к порче (болезням) готовых хлебобулочных изделий.

Определение качественного состава микрофлоры теста осуществляют аналогично определению микрофлоры прессованных дрожжей.

В процессе созревания теста следят за газообразующей способностью дрожжей, степенью их размножения, активностью кислотообразующих бактерий.

Газообразующую способность дрожжей в тесте, мальтазную активность и осмочувствительность дрожжей определяют в микрогазометрическом приборе И.К. Елецкого.

Степень размножения дрожжей определяют в счетной камере: исследуемый материал предварительно обрабатывают по методу Гуторова раствором щелочи с последующей окраской метиленовым синим. Количество дрожжевых клеток по мере созревания теста увеличивается. Так, при замесе теста количество дрожжевых клеток в 1 г теста составляет около 70 млн, а в конце процесса созревания – 112–117 млн; при использовании жидких дрожжей количество дрожжевых клеток в тесте намного меньше и составляет около 20–25 млн в 1 г.

Определение активности молочнокислых бактерий. Активность молочнокислых бактерий определяют по методу Г.М. Смирновой и М.П. Юргенсон по интенсивности восстановления янус-грюн или метиленового синего. Для этого 20 г теста смешивают с 40 мл воды, нагретой до температуры 40 °С. Из смеси отбирают две пробы по 10 мл. В одну пробирку (опытную) добавляют 1 мл 0,05 %-го водного раствора янус-грюн или метиленового синего. Вторая пробирка служит контролем. Пробирки помещают в термостат при 40 С. Активность молочнокислых бактерий определяют по времени, необходимому для обесцвечивания краски: низкая - 90–100 мин, высокая - 35–50 мин, очень высокая - 7–25 мин.

**Контроль готовой продукции**

При выпечке хлеба температура корки достигает 180–200 °С, но в центре мякиша она не поднимается выше 95–98 °С, поэтому отдельные клетки дрожжей и термоустойчивых молочнокислых бактерий могут выжить, не погибают и споры сенной и картофельной палочек. Корка хлеба сразу после выпечки практически стерильна, но в процессе транспортировки, хранения и реализации в торговой сети поверхность хлеба может загрязняться различными микроорганизмами, в том числе и патогенными. Во избежание загрязнения хлеба имеется ряд обязательных санитарных требований.

При микробиологическом обследовании хлеба производят следующие анализы: определение внешнего загрязнения хлеба бактериями группы кишечных палочек (БГКП) как показателя антисанитарного состояния производства и несоблюдения требований санитарной инспекции; определение спорооборазующих бактерий в хлебе.

Обнаружение внешнего загрязнения хлеба кишечной палочкой. На поверхность хлеба накладывают стерильный трафарет (1010 см) и ограниченную поверхность протирают ватным тампоном, смоченным в стерильной воде. Тампон опять помещают в пробирку со стерильной водой. В промывочной воде определяют наличие БГКП путем посева на среду Эндо, на которой эти бактерии образуют характерные ярко-красные блестящие колонии.

Определение спорообразующих бактерий в хлебе. Из мякиша пшеничного хлеба стерильным ланцетом вырезают кусок массой 10 г, помещают в стерильную колбу, заливают 90 мл стерильной воды и энергично встряхивают в течение 5 мин. Из полученной суспензии разведения 1:10 готовят разведения 1:100 и 1:1000. По 1 мл каждого разведения высевают в пробирки с мясопептонным бульоном. Посевы выдерживают в термостате при 37 С в течение 48 ч. Белую булку режут на ломтики толщиной 2–3 см, раскладывают их в чашки Петри и стерилизуют в автоклаве при 0,15 МПа в течение 20 мин. После охлаждения на поверхность ломтиков наносят по 10 мл бульонной культуры. Затем чашки помещают во влажную камеру (эксикатор с водой на дне) и выдерживают ее в термостате при температуре 35–37 С в течение 48–72 ч. При наличии в бульонной культуре сенной и картофельной палочек наблюдается ослизнение и потемнение ломтиков, появляется специфический гнилостный запах.

119.Санитарно-микробиологический контроль в бродильной промышленности (на примере производства пива).

В пивоваренном производстве микробиологическому контролю подлежат:

- ячмень, солод, несоложенные материалы;

- вода;

- дрожжи пивные;

- сусло;

- пиво готовое;

- бутылки;

- укупорочные материалы;

- технологическое оборудование, коммуникации, автоцистерны (эффективность санитарной обработки).

Микробиологический контроль осуществляется путем отбора проб и определения показателей по участкам производства согласно схеме (приложение [1](https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293763/4293763189.htm" \l "i162878" \o "Приложение 1)).

5.1. Ячмень, солод, несоложенные материалы.

Пиво должно вырабатываться из доброкачественного сырья, отвечающего требованиям ГОСТов, ОСТов и ТУ.

Кроме определения качества ячменя, солода и других зернопродуктов по соответствующим ГОСТам, ОСТам и ТУ, осуществляемого во время приемки сырья, проводят их внешний осмотр для оценки санитарного состояния в момент поступления. Использование сырья, пораженного гнилью и плесенью, не допускается. Визуальную оценку качества производит технолог, зав. лабораторией, мастер цеха или лицо, назначенное приказом директора, и записывает в журнал оценки качества продукции.

5.2. Вода.

При производстве пива используют воду, отвечающую требованиям [ГОСТ 2874-82](https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4294848/4294848348.htm" \o "ГОСТ 2874-82 Вода питьевая. Гигиенические требования и контроль за качеством) «Вода питьевая». Пробу воды для санитарно-микробиологического анализа отбирают в производственных помещениях. Отбор проб воды и анализы проводят по [ГОСТ 18963-73](https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4294850/4294850596.htm" \o "ГОСТ 18963-73 Вода питьевая. Методы санитарно-бактериологического анализа). Контроль воды проводят не реже 1 раза в месяц.

Бактериологические показатели качества воды должны соответствовать требованиям [ГОСТ 2874-82](https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4294848/4294848348.htm" \o "ГОСТ 2874-82 Вода питьевая. Гигиенические требования и контроль за качеством) «Вода питьевая».

5.3. Дрожжи пивные.

5.3.1. Пивные дрожжи из аппарата чистых культур или из последней бутылки перед передачей в цех (при ручном разведении) анализируют методом микроскопирования в капле метиленовой сини с добавлением 10 % раствора NaOH или KOH. Определяют процент нежизнеспособных дрожжевых клеток (приложение 4 п. 1.1.2). Присутствие бактерий и диких дрожжей не допускается.

Дикими называются виды дрожжей, не характерные для данного производства и попадающие в него случайно.

Берут 1 см3 дрожжей из аппарата чистых культур и разводят стерильной водой. Серию разведений делают по методике, описанной в приложении 4 п. 1.2.1.

Поверхностным способом высевают по 0,1 см3 суспензии из разведений (ориентировочно из разведения 10-5) одновременно на три среды: с кристаллическим фиолетовым, с лизином и для контроля - на сусловой агар.

Посевы инкубируют 48 ч при (30 ± 1) ºС. Результаты учитывают следующим образом: на сусловом агаре растут как пивные, так и все виды диких дрожжей: на среде с кристаллическим фиолетовым растут только дикие дрожжи рода Saccharomyces; на среде с лизином только дикие дрожжи pp. Candida, Torulopsis, Brettanomyces и др., не относящиеся к роду Saccharomyces. При инкубировании свыше 48 ч на селективных средах начинают расти и пивные дрожжи.

5.3.2. Отбор проб семенных дрожжей производят из каждой ванночки или монжю. Пробы отбирают с разных уровней чистой стеклянной трубкой или пипеткой с расширенным концом и помещают в небольшие колбочки или пробирки.

В семенных дрожжах микроскопированием определяют упитанность по гликогену (приложение 4 п. 1.1.3), процент нежизнеспособных дрожжевых клеток и содержание бактерий.

Обращают внимание на морфологию дрожжевых клеток. Наличие сильно удлиненных или заостренных клеток свидетельствует о дегенерации культуры или о заражении дикими дрожжами. В этом случае делают посев на селективные среды так же, как и для дрожжей из аппаратов чистых культур, но с добавлением в питательную среду стрептомицина - 80 мг/дм3 или левомицетина - 50 мг/дм3, или другого антибиотика для подавления роста бактерий.

В семенных дрожжах количество бактерий не должно быть больше 1 % от общего числа дрожжевых клеток; количество нежизнеспособных дрожжевых клеток должно быть в пределах 5 %; в 70 - 75 % дрожжей должен содержаться гликоген.

Дрожжи, не отвечающие данным требованиям, необходимо подвергать антисептической обработке, один из способов которой дан в приложении 6.

5.4. Сусло.

5.4.1. Сусло (после теплообменника).

В охлажденном сусле определяют общее число микроорганизмов высевом 1 см3 пробы глубинным способом на питательный агар или мясопептонный агар. Методика посева описана в приложении 4 п. 1.2.2. После инкубации при температуре (30 ± 1) ºС в течение 48 ч подсчитывают число выросших колоний. Общее число микроорганизмов в 1 см3 сусла не должно быть больше 300.

Посевом 1 см3 пробы сусла глубинным способом на сусловой агар с мелом выявляют кислотообразующие бактерии. После инкубации при (30 ± 1) ºС в течение 72 ч кислотообразующие бактерии дают вокруг выросших колоний зоны растворения мела. В охлажденном сусле кислотообразующие бактерии должны отсутствовать.

5.4.2. Сусло из стерилизатора после его охлаждения при разведении чистой культуры дрожжей высевают в объеме 1 см3 глубинным способом на питательный агар или мясо-пептонный агар и сусловой агар. После инкубации в течение 48 ч рост любых форм микроорганизмов должен отсутствовать.

5.5. Готовое пиво.

Отбор проб осуществляют от каждого сорта в соответствии с [ГОСТ 12786-80](https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4294838/4294838358.pdf" \o "ГОСТ 12786-80 Пиво. Правила приемки и методы отбора проб).

Непосредственно перед вскрытием бутылок с пивом их перемешивают 10-кратным переворачиванием с донышка на пробку или круговым движением. После вскрытия горлышко стеклянных бутылок обжигают и отбирают пиво в объеме, необходимом для анализа. Анализ производят не менее, чем из двух бутылок.

Определяют общее число микроорганизмов на питательном агаре или мясо-пептонном агаре, наличие бактерий группы кишечных палочек и стойкость пива в товарной упаковке при (20 ± 2) ºС).

Общее число микроорганизмов в 1 см3 не должно превышать 500 клеток.

Методика определения бактерий группы кишечных палочек изложена в приложении 4 п. 1.2.4.

Для специальных сортов бутылочного пива с массовой долей сухих веществ в начальном сусле 12 % и более бактерии группы кишечных палочек не допускаются в 10 см3; для массовых сортов бутылочного пива с массовой долей сухих веществ в начальном сусле 10 - 11 % бактерии группы кишечных палочек не допускаются в 3 см3; в пиве розливном бактерии группы кишечных палочек не допускаются в 1 см3.

Патогенные микроорганизмы, в том числе сальмонеллы не допускаются в 25 см3 готового пива. Анализ на патогенные микроорганизмы проводится учреждениями санитарно-эпидемиологической службы по методам, утвержденным МЗ СССР.

5.6. Исправимый брак пива.

На анализ берут исправимый брак пива после тепловой обработки и охлаждения до 2 - 5 °С. Содержание микроорганизмов в 1 см3 не должно превышать 500 клеток.

5.7. Бутылки.

От каждой моечной машины отбирают 5 - 10 вымытых бутылок. Остаточную воду из всех бутылок сливают в одну из них и закрывают эту бутылку ватной пробкой. В лаборатории делают высев 1 см3 остаточной воды на питательный агар или мясо-пептонный агар глубинным способом. Посевы инкубируют при (30 ± 1) ºС в течение 48 ч. Общее число микроорганизмов в 1 см3 должно быть не более 100 в пересчете на одну бутылку.

Качество мойки бутылок можно определять другим способом. В одну из бутылок наливают стерильную водопроводную воду (10 % от объема бутылки) и последовательно ополаскивают ею внутреннюю поверхность 5 - 10 бутылок. Высев смывной воды производят вышеуказанным способом. При вычислении общего числа микроорганизмов в 1 см3 смывной воды учитывают объем воды для ополаскивания и число бутылок.

5.8. Укупорочный материал.

Кроненпробки отбирают с рабочего места стерильным пинцетом в количестве 10 штук в стерильную широкогорлую колбу, заливают 100 см3 стерильной водой и встряхивают в течение 5 мин. Определение общего количества микроорганизмов производят высевом 1 см3 смыва глубинным способом на мясо-пептонный агар или на питательный агар. Число микроорганизмов в пересчете на одну пробу не должно быть более 100.

5.9. Воздух.

Для определения количества микроорганизмов в воздухе отделения чистых культур используют седиментационный метод (метод оседания). Чашки Петри с мясо-пептонным или питательным агаром и сусловым агаром переносят в помещение, где исследуют воздух. Крышки сдвигают так, чтобы вся поверхность агаровой пластинки была открыта полностью. Чашки оставляют открытыми в течение 5, 10 или 15 мин, после чего крышку закрывают и чашки помещают в термостат при (30 ± 1) ºС на 24 - 48 ч.

Определяют количество микроорганизмов в 1 м3 воздуха по формуле, предложенной Омелянским:

https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293763/4293763189.files/x001.png

где *а* - число выросших колоний (среднее значение);

*S* - площадь чашки Петри, см2;

*Т* - время экспозиции, мин;

100 - пересчет площади чашки на 100 см2;

100 - пересчет на 1 м3 воздуха;

5 - экспозиция чашки по Омелянскому (за 5 мин на чашку Петри площадью 100 см2 оседает столько микроорганизмов, сколько их содержится в 10 л воздуха).

Воздух считается чистым, если в нем содержится не более 500 микроорганизмов в 1 м3, кроме того, в воздухе отделения чистых культур не должно быть посторонних дрожжей.

Для контроля воздуха, используемого для аэрации чистой культуры, применяют те же питательные среды. Чашки Петри с застывшей питательной средой в открытом виде подставляют на 1 мин под струю воздуха, закрывают крышкой и инкубируют при (30 ± 1) ºС. Воздух, вдуваемый в аппарат чистых культур, не должен содержать посторонних дрожжевых клеток, молочнокислых бактерий, спор плесеней.

Аналогично проверяют воздух, используемый на технологические нужды в фильтрационном отделении, цехе розлива. На одной чашке Петри не должно быть более 50 клеток микроорганизмов.

120.Санитарно-микробиологический контроль в мясоперерабатывающей отрасли.

4. Микробиологический контроль мяса и других продуктов убоя животных

4.1. Микробиологические исследования мяса и субпродуктов производятся во всех случаях, предусмотренных действующей НД, "Правилами ветеринарного осмотра убойных животных и ветеринарно-санитарной экспертизы мяса и мясных продуктов" (10), а также по требованию контролирующих организаций.

4.2. По показателям, определенным МВТ, исследуют мясо убойных животных и субпродукты, предварительно подвергнутые ветеринарно-санитарной экспертизе и признанные пригодными для реализации и/или переработки на общих основаниях.

4.3. Отбор проб и микробиологические исследования мяса и субпродуктов проводят в соответствии с ГОСТ 21237-75 (11).

4.4. Микробиологические показатели определяют в соответствии с МБТ, ГОСТ 21237-75 и др. нормативной документацией.

Схема микробиологических исследований приведена в приложении 1.

Примечание: При исследовании мяса и субпродуктов на наличие бактерий рода Сальмонелла отбирают навеску массой 25 г. Соотношение навески и среды накопления 1:5, согласно методическим указаниям "Лабораторная диагностика сальмонеллезов человека и животных, обнаружение сальмонелл в кормах, продуктах питания и объектах внешней среды" (12).

5. Микробиологический контроль колбасных изделий и продуктов из мяса

5.1. Микробиологический контроль колбасных изделий и продуктов из мяса (вареные, копчено-вареные, копчено-запеченые, запеченые, жареные, сырокопченые) проводят периодически, но не реже одного раза в 10 дней, а также по требованию контролирующих организаций и в случаях установления использования в производстве подозрительного по доброкачественности сырья и вспомогательных материалов, нарушения температурного или санитарно-гигиенического режимов при изготовлении продукции.

5.2. Отбор проб проводят по ГОСТ 9792-73 (13).

5.3. Микробиологические исследования колбасных изделий и продуктов из мяса проводят согласно ГОСТ 9958-81 (14).

5.4. Микробиологические исследования проводят по показателям, указанным в НД на конкретный вид продукции, а также в МБТ.

Схема микробиологических исследований приведена в приложении 2.

6. Микробиологический контроль натуральных и рубленых полуфабрикатов, кулинарных изделий быстрозамороженных блюд (БЗБ)

6.1. Микробиологические исследования натуральных и рубленых полуфабрикатов проводят периодически, но не реже одного раза в 10 дней, а также по требованию контролирующих организаций.

6.1.1. Отбор проб, подготовку и микробиологические исследования полуфабрикатов и кулинарных изделий проводят по ГОСТ 4288-76 (15).

6.1.2. Микробиологические исследования проводят по показателям, указанным в ТУ на каждый конкретный вид продукции, а также в МБТ.

Схема микробиологических исследований приведена в приложении 3.

6.2. Микробиологический контроль БЗБ проводят на всех стадиях технологического процесса производства быстрозамороженных готовых кулинарных блюд и полуфабрикатов. Периодичность контроля, отбор и подготовку проб, микробиологические исследования БЗБ осуществляют согласно действующей "Инструкции по микробиологическому контролю производства быстрозамороженных готовых мясных блюд" (16), ТУ на конкретный вид продукции, а также МБТ.

Схема микробиологических исследований приведена в приложении 4.

7. Микробиологический контроль консервов

7.1. Порядок проведения микробиологического контроля консервов (периодичность, методы контроля) в процессе их производства определен "Инструкцией о порядке санитарно-гигиенического контроля консервов на производственных предприятиях, оптовых базах, в розничной торговле и на предприятиях общественного питания" (6).

Мясные и мясорастительные стерилизованные консервы общего назначения и детского питания относятся к группе А; пастеризованные мясные и мясорастительные консервы (полуконсервы) относятся к группе Д.

7.2. Для консервов группы А до стерилизации определяют следующие показатели:

- количество МАФАнМ;

- присутствие или количество спор мезофильных или термофильных клостридий при повышенном количестве МАФАнМ в консервах до стерилизации, при обнаружении микробиологического брака готовых консервов по дефектам бомбаж, "хлопуши", признаки микробиологической порчи - более 0,2%; при проведении профилактического контроля.

Для анализа одновременно отбирают 3 пробы ежедневно 1 раз в смену по каждому виду продукции.

7.3. Для консервов группы Д до пастеризации отбирают от каждой партии из 5 фасованных банок общую пробу массой 50 г и определяют следующие показатели:

- количество МАФАнМ;

- количество спор мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов;

- количество спор мезофильных анаэробных микроорганизмов;

- количество спор психрофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов;

- количество спор психрофильных анаэробных микроорганизмов.

7.4. При установлении промышленной стерильности мясных и мясо-растительных стерилизованных консервов группы А микробиологические исследования готовой продукции выполняют при закладке консервов на длительное хранение, обнаружении повышенного содержания микроорганизмов в сырье перед стерилизацией, нарушениях технологического процесса, отсутствии показателей допустимого содержания микроорганизмов в сырье перед стерилизацией банок, изготовлении консервов на экспорт.

7.4.1. Отбор проб (банок) и подготовку их к исследованиям при определении промышленной стерильности проводят согласно ГОСТ 8756.0-70; 8756-18-70; 26668-85; 26669-85; 26670-91 (17, 18, 19, 20, 21). При этом из сменной выработки консервов каждого наименования и каждого размера тары отбирают по три банки. Свыше 1 л отбирают 1 единицу фасовки. Консервы в таре вместимостью до 1 л включительно термостатируют не менее 5 сут. при температуре 37 °C; а в таре вместимостью свыше 1 л - не менее 7 сут. при температуре 37 °C.

7.4.2. При установлении промышленной стерильности стерилизованных консервов группы А определяют следующие микробиологические показатели:

- мезофильные аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы по ГОСТ 10444.3-85 (22);

- мезофильные анаэробные микроорганизмы по ГОСТ 10444.4-85 (23).

7.4.3. При определении промышленной стерильности консервов детского питания дополнительно проводят микробиологические исследования на выявление термофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов по ГОСТ 10444.5-85 (24) и термофильных анаэробных микроорганизмов по ГОСТ 10444.6-85 (25).

7.5. При микробиологических исследованиях готовых пастеризованных мясных и мясорастительных консервов две отобранные банки анализируют на выявление коагулазоположительных стафилококков по ГОСТ 10444.2-75 (26), определение B.cereus по ГОСТ 10444.8-88 (27), C.perfringens - по ГОСТ 10444.9-88 (28) - без термостатирования, и одну банку для выявления C.botulinum и ботулитических токсинов по ГОСТ 10444.7-86 (29) термостатируют перед исследованиями.

При обнаружении признаков микробной порчи в процессе термостатирования пастеризованные консервы анализируют сразу после их появления.

7.6. Микробиологические показатели мясных и мясорастительных консервов группы А и пастеризованных консервов группы Д определяют по МБТ.

Схема микробиологических исследований консервов на промышленную стерильность приведена в приложении 5.

8. Микробиологический контроль вспомогательных материалов

8.1. Микробиологические исследования вспомогательных материалов проводят при входном контроле (см. п. 3 настоящего ОНД), при получении неудовлетворительных результатов микробиологического контроля готовой продукции, а также по требованию контролирующих организаций.

8.2. Отбор проб, их подготовку и микробиологические исследования вспомогательных материалов осуществляют в соответствии с действующими ГОСТ, МБТ и другой нормативной документацией.

8.3. При исследовании поваренной соли определяют количество МАФАнМ, наличие БГКП (8).

8.4. Сахар-песок исследуют в соответствии с ГОСТ 26968-86 (30) и определяют количество МАФАнМ, дрожжей, плесневых грибов.

8.5. Лед пищевой, используемый в колбасном производстве, исследуют по ГОСТ 18963-82; 2874-82 (31; 32) на количество МАФАнМ и коли-индекс.

8.6. В специях определяют количество МАФАнМ, количество дрожжей и плесневых грибов, наличие БГКП, бактерий рода Сальмонелла, сульфитредуцирующих клостридий (1).

8.7. Яйцо куриное диетическое, меланж яичный мороженый, желтки и белки яичные мороженые исследуют на количество МАФАнМ и наличие БГКП, бактерий рода Сальмонелла (1).

8.8. Яичный порошок исследуют на наличие бактерий рода Сальмонелла, БГКП, бактерий рода Proteus (1).

8.9. Казеинат натрия пищевой исследуют на количество МАФАнМ, наличие БГКП, сульфитредуцирующих клостридий, бактерий рода Сальмонелла (1).

8.10. Молоко коровье сухое исследуют по ГОСТ 9225-84 (33), определяют количество МАФАнМ, наличие БГКП, бактерий рода Сальмонелла.

8.11. Белковую искусственную колбасную оболочку контролируют в соответствии с ТУ 10-10-01-03-89 (34), определяют количество МАФАнМ, плесеней, отсутствие БГКП, бактерий рода Сальмонелла, бациллюс антрацис путем постановки реакции преципитации.

8.12. Кровь пищевую и продукты ее переработки исследуют в соответствии с ТУ 10.02.01.174-93 (35) по показателям, указанным в данном ТУ, а также МБТ (1).

8.13. Желатин пищевой исследуют на содержание количество МАФАнМ, наличие БГКП, бактерий рода Сальмонелла, количество желатинразжижающих бактерий (1).

8.14. Белки соевые исследуют в соответствии с "Техническими требованиями к соевым белкам, закупаемым по импорту, для производства вареных, полукопченых колбас и полуфабрикатов" (36), определяют количество МАФАнМ, наличие БГКП, бактерий рода Сальмонелла, коагулазоположительных стафилококков, число спор сульфитредуцирующих клостридий, количество дрожжей и плесеней.

9. Порядок использования остатков образцов мясных продуктов, исследованных в лабораториях мясоперерабатывающих предприятий

Остатки образцов мясных продуктов, исследованных в лабораториях мясоперерабатывающих предприятий, используют на том же предприятии для выработки пищевой и технической промышленной продукции в соответствии с письмом 1-105-518 от 14.11.83 "О порядке использования остатков образцов мясных продуктов, исследованных в лабораториях" (37).

Решение об использовании остатков проб на пищевую или техническую промышленную переработку принимает руководитель лаборатории. В колбасном цехе доставленные остатки образцов продукции допускаются к переработке на пищевые изделия с разрешения мастера и ветеринарно-санитарного специалиста, обслуживающего данный цех.

Доброкачественные остатки образцов вареных колбас, мясных хлебов, сосисок, сарделек, подвергавшихся микробиологическим анализам, могут быть направлены в переработку на пищевые изделия в тех случаях, когда посевы из них на питательные среды проводились в стерильных боксах при отсутствии там проб другой продукции.

Доброкачественные остатки вареных колбас, мясных хлебов, сосисок, сарделек, продуктов из мяса, подвергавшихся микробиологическому контролю в лаборатории, расположенной на территории предприятия, должны по окончании исследований немедленно направляться в переработку на вареные или ливерные колбасы с соблюдением требований пункта 2.6 ГОСТ 23670-79 (38).

Доброкачественные остатки котлет (после предварительной стерилизации) и мясных консервов - в переработку на ливерные колбасы с соблюдением требований пункта 2.3 ОСТ 49 190-89 (39).

Термическая обработка вареных и ливерных колбас, изготовляемых с использованием остатков проб от микробиологических исследований, должна проводиться строго в соответствии с действующими технологическими инструкциями.

Остатки проб студней, паштетов и тому подобных продуктов, а также остатки образцов продукции сомнительного качества на пищевые цели не используют, их направляют в цех технических фабрикатов для производства кормовой муки или обезвреживают автоклавированием.

Направление из цеха в лабораторию образцов продукции для исследований, а также передача из лаборатории остатков этих образцов на пищевую и техническую промышленную переработку должны оформляться накладной.

10. Контроль санитарного состояния производства

10.1. Контроль санитарного состояния предприятий, выпускающих полуфабрикаты, колбасные изделия и продукты из мяса.

10.1.1. С целью контроля санитарного состояния производства и эффективности проведения санитарной обработки, предотвращения выпуска недоброкачественной продукции проводят микробиологические исследования смывов с технологического оборудования, инвентаря, тары, рук работающего персонала.

Смывы отбирают до начала работы после предварительно проведенной санитарной обработки с помощью стерильных увлажненных тампонов, сделанных из ваты или марли.

10.1.2. При взятии смывов придерживаются следующих правил:

- смывы с крупного оборудования и инвентаря берут с поверхности 100 https://ppt.ru/PROFPPT/Images/136312_00000003.png. Для ограничения поверхностей используют трафарет площадью 100 https://ppt.ru/PROFPPT/Images/136312_00000004.png. Трафарет фламбируют перед каждым употреблением;

- смывы с мелкого оборудования берут со всей поверхности;

- при взятии смывов с рук протирают тампоном ладонные поверхности обеих рук, проводя не менее 5 раз по каждой ладони и пальцам, а затем протирают межногтевые пространства, ногти.

10.1.3. При плановом исследовании оборудования, инвентаря, тары в смывах определяют количество МАФАнМ, наличие БГКП, бактерий рода Сальмонелла, бактерий рода Протеус.

При этом исследования проводят со следующей периодичностью:

- определение количества МАФАнМ - 2 раза в месяц;

- выявление БГКП - 2 раза в месяц;

- выявление бактерий рода Сальмонелла - 1 раз в месяц;

- выявление бактерий рода Протеус - 1 раз в месяц.

Примечание: Отбор смывов с оборудования, инвентаря, тары осуществляют выборочно, с чередованием объектов исследований.

При исследовании смывов, взятых с рук работников, проводят выявление БГКП. Отбор смывов с рук проводят не реже одного раза в 15 дней.

График проведения микробиологических исследований с указанием конкретных объектов утверждается ветеринарным врачом предприятия или, при его отсутствии (на мясоперерабатывающих предприятиях малой мощности), технологом (или директором). Исследования в последнем случае проводятся на договорных началах аккредитованными лабораториями.

При внеплановом контроле (для выявления возможного источника контаминации продукта) проводят дополнительные исследования на наличие S.aureus, C.perfingens и др.

10.1.4. Микробиологические исследования смывов проводят по принятым методам, изложенным в "Методических указаниях по санитарно-бактериологическому контролю на предприятиях общественного питания и торговли пищевыми продуктами" (40).

10.1.5. В смывах с поверхности технологического оборудования, мелкого инвентаря не должно содержаться БГКП, бактерий рода Сальмонелла, бактерий рода Протеус.

Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов не должно превышать https://ppt.ru/PROFPPT/Images/136312_00000005.png.

В смывах с рук работников не допускается наличие БГКП.

10.1.6. Превышение допустимого количества МАФАнМ и/или наличие БГКП, бактерий рода Сальмонелла, бактерий рода Протеус свидетельствуют о неудовлетворительном состоянии производства.

В этом случае проводят внеплановую санитарную обработку (мойку и дезинфекцию) согласно "Инструкции по мойке и профилактической дезинфекции на предприятиях мясной и птицеперерабатывающей промышленности" (41). По окончании санитарной обработки проводят повторное микробиологическое исследование.

10.2. Контроль воды

10.2.1. Микробиологические исследования воды проводят периодически, но не реже одного раза в месяц, а также по требованию контролирующих организаций.

10.2.2. Отбор проб и микробиологический анализ проводят согласно ГОСТ 18963-82(32).

10.2.3. При исследовании воды определяют количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов; количество бактерий группы кишечных палочек (коли-индекс). В соответствии с ГОСТ 2874-82 (33) в 1 см3 не должно содержаться более https://ppt.ru/PROFPPT/Images/136312_00000006.png; коли-индекс не более 3 в 1 л воды.

Схема микробиологического исследования воды приведена в приложении 6.

10.3. Контроль санитарного состояния производства консервов осуществляется в соответствии с "Инструкцией о порядке санитарно-технического контроля консервов на производственных предприятиях, оптовых базах, в розничной торговле и на предприятиях общественного питания" (6), "Инструкцией о порядке микробиологического контроля производства мясных пастеризованных консервов" (7), "Санитарно-гигиеническим требованиям по производству мясных консервов для питания детей раннего возраста" (8).

10.4. Контроль санитарного состояния предприятий, выпускающих быстрозамороженные готовые блюда, производится в соответствии с "Инструкцией по микробиологическому контролю производства быстрозамороженных готовых мясных блюд" (16).

10.5. Контроль санитарного состояния холодильных камер

10.5.1. Микробиологический контроль санитарного состояния холодильных камер проводят периодически, но не реже одного раза в квартал, а также после очередной или внеочередной дезинфекций и по требованию контролирующих организаций.

10.5.2. Определение зараженности плесенями стен холодильных камер проводят методом соскоба. Соскобы отбирают с четырех стен камер таким образом, чтобы проба для анализа составляла 100 https://ppt.ru/PROFPPT/Images/136312_00000007.png. Зараженность плесенями воздуха проводят методом оседания спор на чашку Петри за 5 мин. согласно "Внутриведомственным санитарным требованиям к холодильникам мясной и молочной промышленности" (42).

10.5.3. Для камер с температурой минус 12 °C и ниже количество плесеней в воздухе не должно превышать https://ppt.ru/PROFPPT/Images/136312_00000008.png, осевших на чашку в течение 5 мин.: на 1 https://ppt.ru/PROFPPT/Images/136312_00000009.png поверхности стен - не более https://ppt.ru/PROFPPT/Images/136312_00000010.png. Для камер с температурой минус 11,9 °C и выше количество плесеней в воздухе не должно превышать https://ppt.ru/PROFPPT/Images/136312_00000011.png; на поверхности стен не более https://ppt.ru/PROFPPT/Images/136312_00000012.png на 1 https://ppt.ru/PROFPPT/Images/136312_00000013.png (42).