**Конспекты лекций курса «ОСНОВЫ МИКРОБИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ»**

**для специальности «Инженерная экология» ф-та Инженерной экологии МГУИЭ**

**1.1. Предмет микробиологии, значение микроорганизмов в природе и различных отраслях человеческой деятельности**.

***Микробиология*** (от греч. micros – малый, bios – жизнь и logos – наука) – наука о мельчайших, невидимых невооруженным глазом живых организмах, называемых микроорганизмами или микробами.

Микробиология изучает морфологию, систематику и физиологические особенности микроорганизмов, условия их жизнедеятельности, роль в природе и жизни человека. Микробиологи разрабатывают способы использования полезных микробов в промышленности и сельском хозяйстве, средства и методы борьбы с патогенными микроорганизмами, вызывающими болезни растений, животных и человека.

Микроорганизмы представляют собой разнородную группу, общей характеристикой которой является малый размер. Самые крупные микробы не превышают 100 микрон (1 микрон=10-6 метра), большая часть имеет размер 0,1-10 мкМ, а размер отдельных представителей равен сотым долям микрона. Микробы нельзя увидеть невооруженным глазом. Для их изучения используют оптические (макс. увеличение 3 тыс. раз) или электронные (макс. увеличение 750 тыс. раз) ***микроскопы***.

Представителями микроорганизмов являются:

Бактерии

Архебактерии

Микроскопические водоросли

Микроскопические грибы

Простейшие животные

Вирусы.

Микроорганизмы широко распространены в природе. Они могут развиваться в скальных породах на глубине до 6 км, на вершинах высоких гор (6-7 км), в безводных пустынях, на поверхности зданий, сооружений, памятников. Некоторые микробы могут обитать в экстремальных условиях - при высоких (до 113°С) и низких (до -36°С) температурах, при давлении до 1400 атм, при полном отсутствии кислорода, в условиях высокой солености (насыщенный раствор NaCl), высокой кислотности (pH 0-1) и щелочности (pH до 11). Споры микроорганизмов чрезвычайно устойчивы, они могут выдерживать условия космического пространства и выживать в течение 20-30 млн лет (например, в кишечнике пчелы, замурованной в кусочке янтаря).

Микроорганизмы имеют огромное значение в природных процессах и человеческой деятельности.

* Они участвуют в глобальном круговороте элементов, причем ряд стадий был бы невозможен без них, например, фиксация атмосферного азота, денитрификация и минерализация сложных органических веществ. От деятельности микробов зависит плодородие почв, образование каменного угля, нефти, природного газа, других полезных ископаемых.
* На деятельности микроорганизмов основан целый ряд необходимых человеку производств (хлебопечение, пивоварение, виноделие, получение молочнокислых продуктов, производство различных химических веществ, антибиотиков, гормонов, ферментов и др).
* Микроорганизмы используются для очистки окружающей среды от различных природных и антропогенных загрязнений.
* Многие микробы являются возбудителями заболеваний человека, животных и растений, а также вызывают порчу продуктов питания и различных промышленных материалов.

**1.2. История развития микробиологии**

С микроорганизмами человечество соприкасалось всегда, долгое время даже не догадываясь об их существовании. С незапамятных времен люди наблюдали брожение теста, готовили спиртные напитки, сквашивали молоко, делали сыры, переносили различные заболевания. Однако до средины XIX века не было доказано, что разного рода бродильные процессы и эпидемии могут быть следствием деятельности ничтожно малых существ.

Первым, кто увидел и описал различные микроорганизмы, был голландский торговец сукном ***Антони ван Левенгук***. А. Левенгук в свободное время конструировал микроскопы, и ему удалось добиться увеличения в 280 раз. Непосредственное открытие микробов произошло в 1676 г., когда А. Левенгук в капле дождевой воды из бочки заметил огромное количество очень маленьких движущихся организмов. Описания своих наблюдений, сопровождаемые тщательными зарисовками, А. Левенгук отсылал в Английское Королевское общество, где они привлекли внимание других исследователей. С этого времени начинается первый период развития микробиологии – описательный, или ***микрография.***

А. Левенгук и его последователи описывали морфологию микроорганизмов, которых они видели под микроскопом в разных субстратах. Был сделан вывод о вездесущности микроорганизмов. Позднее предпринимались попытки систематизировать мельчайшие существа, которые тогда называли анималькулями (живыми зверьками) или инфузориями (от»развивающиеся в настоях). Методики работы были еще несовершенны, культуры микроорганизмов нередко загрязнялись посторонней микрофлорой. Отсюда родилась теория ***плеоморфизма***, согласно которой микробы способны легко менять форму в зависимости от условий существования. С плеоморфистами спорили приверженцы другой теории – ***мономорфизма***, признававшие у бактерий как и у высших организмов, постоянство видов.

К середине XIX века был накоплен большой материал о разнообразных группах микроорганизмов. Однако физиологию и обмен веществ микробов исследования не затрагивали, поэтому роль микромира в природе, а также в жизни и деятельности человека оставалась невыясненной.

***Физиологический этап*** развития микробиологии начался примерно с середины XIX века и связан, прежде всего, с именем французского ученого ***Луи Пастера***. Выясняя причину прокисания вина, Л.Пастер показал, что брожение вызывается микроорганизмами, а не является чисто химическим процессом, как считали раньше. При этом каждый вид брожения обусловлен активностью определенных микробов. Позднее, изучая возбудителей маслянокислого брожения, Л. Пастер обнаружил что они могут жить только в отсутствие кислорода, таким образом, были открыты ***анаэробные*** организмы. Долгое время считалось, что микроорганизмы в природе зарождаются самопроизвольно. Лишь работы Л.Пастера позволили окончательно установить невозможность самозарождения микробов. Безупречные опыты ученого показали, что если питательные среды простерилизованы, то есть надежно освобождены от микроорганизмов, то жизнь в них даже в примитивной форме зародиться не может. Современные дезинфекция, антисептика и асептика основаны с теоретической точки зрения на работах Л.Пастера. Способ тепловой обработки продуктов, предохраняющий их от порчи, получил название ***«пастеризация».***

Много внимания Л. Пастер уделял изучению возбудителей болезней. Он разработал микробную теорию заразных болезней, предложил ***предохранительные прививки*** от сибирской язвы и бешенства, которые спасли жизнь тысячам людей.

Работы по медицинской микробиологии успешно продолжил немецкий исследователь ***Роберт Кох***. Он выделил в чистом виде возбудителей многих болезней, в том числе и возбудителя туберкулеза, названный в его честь «палочкой Коха». В лаборатории Р. Коха были разработаны многие методы микробиологии, применяемые и в наши дни.

Признание огромной роли микроорганизмов в круговоротах элементов на Земле связано с именами ***Сергея Николаевича Виноградского*** и ***Мартинуса Бейеринка.*** С.Н.Виноградскому принадлежит открытие уникального образа жизни – хемолитоавтотрофии и изучение серных и нитрифицирующих бактерий. С.Н.Виноградский и М. Бейеринк независимо друг от друга обнаружили, что у бобовых растений на корнях развиваются специфические образования – клубеньки, в которых поселяются особые бактерии, способные усваивать азот из воздуха и превращать его в нитратные, нитритные или аммонийные соли, легко усваиваемые растениями.

На рубеже XIX и XX веков русский ученый ***Дмитрий Иванович Ивановский*** открыл ***вирус*** табачной мозаики, обнаружив особую группу биологических объектов, не имеющих клеточного строения.

В XX и XXI веках продолжается описание и систематизация новых микроорганизмов. Большое внимание уделяется изучению физиологии и биохимических особенностей микробов. На основании фундаментальных знаний разработаны сотни биотехнологий, использующих свойства микроорганизмов.

Современная микробиология развивается в следующих основных направлениях:

* фундаментальные исследования (выяснение путей метаболизма, выделение и очистка ферментов, регуляция обмена веществ и т.д.);
* систематика микроорганизмов, изучение их эволюции;
* экологическая микробиология (роль микроорганизмов в природных экосистемах и пищевых цепях);
* популяционная микробиология (выяснение природы межклеточных контактов и взаимосвязь клеток в популяции);
* медицинская, ветеринарная и сельскохозяйственная микробиология;
* промышленная микробиология (включает все практические аспекты).

Основными методами микробиологических исследований являются:

* микроскопия (световая, люминисцентная, электронная, лазерная);
* выделение чистых культур и контролируемое культивирование;
* аналитические методы (физиолого-биохимические, генетические, молекулярно-биологические и т.д.).

**3. Строение клеток микроорганизмов**

Все живые организмы, кроме вирусов, имеют клеточное строение. В зависимости от клеточной организации их делят на прокариотные и эукариотные. Прокариотные (от греч. pro – перед, karyon – ядро) клетки имеют только одну полость, эукариоты (от греч. eu – истинный, karyon – ядро) имеют вторичные полости, отделяющие ядро и другие клеточные структуры от цитоплазмы. Прокариотами являются эубактерии и археи, эукариотами – водоросли, грибы и простейшие, а также растения и животные.

##### Строение бактериальной клетки

Различают внешние и внутренние структуры бактерий. К внешним структурам относятся ***клеточная стенка***, а также ***капсулы, жгутики, пили или фимбрии***. Под клеточной стенкой находится ***цитоплазматическая мембрана***. Внутреннее содержание бактериальной клетки представлено ***цитоплазмой***, в которой находится ***нуклеоид, рибосомы, мембранные структуры и разнообразные включения.***

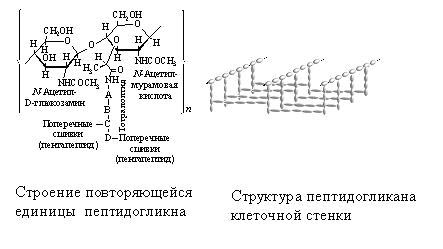
**Капсулы**. Клетки большинства бактерий окружены слизистым слоем – капсулой. Капсулы содержат до 98% воды. Они защищают клетку от высыхания и механических повреждений, от действия токсинов, солнечной радиации и других неблагоприятных факторов. Наличие капсулы расширяет область распространения и выживаемость бактерий. Некоторым бактериям слизистый слой помогает передвигаться путем скольжения. Встречаются макрокапсулы с толщиной слоя более 0,2 мкм, микрокапсулы – менее 0,2 мкм, а также слизистый слой и растворимая слизь. По химическому составу капсулы можно разделить на 2 типа: полисахариды и полипептиды. Существуют капсулы с высоким содержанием липидов, гетерополисахаридов и др. веществ. Некоторые бактерии, например, уксуснокислые способны синтезировать своеобразную капсулу, состоящую из аморфной массы молекул целлюлозы.

**Жгутики.** Бактерии передвигаются с помощью особых нитевидных структур – жгутиков. Число и форма жгутиков не одинаковы у разных видов бактерий. Клетка может иметь один жгутик (монотрих), пучок жгутиков на одном конце (лофотрих), жгутики на обоих концах клетки (амфитрих), много жгутиков, расположенных по всей поверхности клетки (перитрих). Толщина жгутиков колеблется от 12 до 20 нм, длина – 10-20мкм. В строении жгутика можно выделить нить, крюк и базальное тельце, расположенное под цитоплазматической мембраной. Жгутиковая нить состоит из белка флагеллина. Белковые молекулы собраны в спиральные цепи, закрученные вокруг полой середины. Крюк жгутика – изогнутый полый цилиндр, служит для подвижной связи нити с базальным тельцем. Вращательное или поступательное движение жгутика осуществляется в результате работы базального тельца, представляющего собой своеобразный «электромотор».

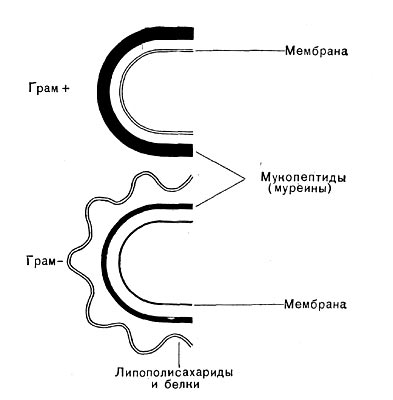
**Пили (фимбрии)** это длиннные, тонкие прямые нити. Они значительно короче и тоньше жгутиков, но более многочисленны (50-400 на клетку). Пили обнаружены как у подвижных, так и у неподвижных бактерий. Их длина – 1,5 мкм, толщина – 7 нм. Пили расположены по всей поверхности клетки и состоят из белка пилина. Пили помогают бактериям прикрепляться к субстрату или другим клеткам. Есть специальные половые F-пили; они имеют внутри канал, по которому ДНК из одной клетки может передаваться в другую при конъюгации бактерий. Пили, как и жгутики, не считаются обязательной структурой бактериальной клетки, так как без них бактерии могут расти и размножаться.

**Клеточная стенка** – один из главных элементов структуры клетки. Она обладает определенной жесткостью и вместе с тем эластичностью. Функции клеточной стенки – придание формы, защита от действия механических и осмотических внешних воздействий. Клеточной стенке принадлежит важная роль в регуляции деления и роста бактерий. Толщина клеточной стенки колеблется от 20 до 100 нм и составляет около 20% сухого вещества клетки. Благодаря наличию пор, клеточная стенка проницаема для крупных молекул.

Главный структурный компонент клеточных стенок – пептидогликан муреин. Молекула пептидогликана представляет собой правильную сеть из параллельно расположенных полисахаридных цепей, соединенных между собой короткими пептидами. Полисахаридные цепи состоят из чередующихся остатков N-ацетил- N-глюкозамина и N-ацетилмурамовой кислоты, соединенных β-1,4-связями. Пептиды состоят из аминокислот L-аланина, D-аланина, D-глутаминовой кислоты, лизина и диаминопимелиновой кислоты.



По строению клеточной стенки различают два основных типа бактерий. Было обнаружено, что если фиксированные клетки бактерий обработать сначала красителем кристаллическим фиолетовым, а затем йодом, образуется окрашенный комплекс. При последующей обработке спиртом в зависимости от строения клеточной стенки бактерии либо остаются окрашенными, либо обесцвечиваются. По имени датского ученого Х.Грама, предложившего такой способ окрашивания, бактерии, сохраняющие окраску, назвали Грам-положительными (Грам+), а обесцвечивающиеся бактерии – Грам-отрицательными (Грам-). Исследования показали, что клеточная стенка Грам+ бактерий состоит из многослойного пептидогликана (40-60% сухой массы клеточной стенки), с которым соединяются вторичные полимеры – тейхоевые и тейхуроновые кислоты. У Грам-отрицательных бактерий есть наружная мембрана, состоящая из фосфолипидов, липополисахаридов, липопротеинов и белков. Под наружной мембраной расположен слой, заполненный раствором жидких белков, олигосахаридов и неорганических соединений - периплазма. Под периплазмой находится тонкий слой пептидогликана, который составляет всего 10% от массы клеточной стенки.



**Цитоплазматическая мембрана** служит главным барьером между цитоплазмой клетки и окружающей внешней средой. При разрушении цитоплазматической мембраны клетка погибает. Цитоплазматическая мембрана состоит из двойного слоя липидов, в который погружены молекулы белков. Основная масса мембранных липидов представлена фосфолипидами. Около 50% поверхности цитоплазматической мембраны составляют мембранные белки. Белки обеспечивают транспорт веществ из клетки и в клетку (транспортные), регулируют внутримембранные и внутриклеточные процессы (ферменты), выполняют рецепторную функцию (рецепторы), участвуют в организации межклеточных контактов и служат для прикрепления внутриклеточных структур к мембране (структурные). Общая толщина мембраны составляет 7-8 нм. Цитоплазматическая мембрана контролирует обмен веществ между клеткой и окружающей средой. Нередко мембрана образует впячивания внутрь клетки, приводящие к формированию особых структур – ***мезосом.*** Чаще всего они образуются в зоне образования клеточной перегородки при делении клеток и поставляют материал для построения новой клеточной стенки. На цитоплазматической мембране и мембранах мезосом локализованы ферменты, которые обеспечивают клетку энергией, контролируют обмен веществ, фото- и хемосинтез, фиксацию азота и другие процессы. Увеличение поверхности мембран дает возможность для размещения большего количества ферментов, делает работу клетки более активной и упорядоченной. С цитоплазматической мембраной и мезосомами бактерий связаны и многие другие функции: биосинтез клеточной стенки и капсулы, выделение экзоферментов, деление, спорообразование.

**Цитоплазма**. Под цитоплазматической мембраной находится цитоплазма. Она состоит из цитозоля и структурных элементов. ***Цитозоль*** это коллоидная система, состоящая из воды, белков, жиров, углеводов, минеральных соединений и других веществ, соотношение которых варьирует в зависимости от вида и возраста бактерий. Цитозоль служит поддерживающей средой для структурных элементов. ***Структурные элементы*** бактериальной клетки представлены рибосомами – круглыми или удлиненными тельцами из РНК (60%) и белка (40%). На рибосомах осуществляется синтез клеточных белков.

**Включения** — необязательные, непостоянные структуры клетки; подразделяются на трофические (запас питательных веществ в клетке — липиды, гликоген); секреторные (секреторные продукты клетки); экскреторные (отработанные ненужные вещества, хранящиеся внутри клетки); пигментные (гемоглобин, гемосидерин, меланин, липофусцин). Включения имеют вид гранул или пузырьков.

**Нуклеоид**. В цитоплазме бактериальной клетки расположен нуклеоид – зона, содержащая ДНК. Бактериальная ДНК представляет собой свернутую в кольцо нить, называемую бактериальной хромосомой. **ДНК бактерий не отделена от остальной цитоплазмы мембраной. Это отличительное свойство прокариот – организмов, не имеющих оформленного ядра.** ДНК нуклеоида в нескольких местах связана с цитоплазматической мембраной. Нуклеоид бактерий – основной носитель информации о свойствах клетки и основной фактор передачи этих свойств потомству. В покоящейся бактериальной клетке один нуклеоид. Клетки в фазе, предшествующей делению, имеют два нуклеоида; в фазе активного размножения может быть четыре и более нуклеоидов.

Кроме нуклеоида в цитоплазме бактериальной клетки могут находиться в сотни раз более короткие кольцевые нити ДНК – плазмиды. Присутствие плазмид обеспечивает дополнительные полезные свойства, например, устойчивость к токсинам, производство антибиотиков, возможность обмена генетической информацией между бактериями.

**Строение эукариотической клетки**

Клетки эукариот организованы гораздо сложнее, чем прокариотические. Внутреннее пространство клетки разделено на ряд полостей, окруженных своей мембраной и называемых органеллами. Снаружи клетка одета клеточной стенкой, которая состоит не из пептидогликана, как у бактерий, а из целлюлозы. Под клеточной стенкой есть цитоплазматическая мембрана, состоящая из двух слоев фосфолипидов со встроенными в липидный бислой белками. Вещество наследственности заключено в ядро, отделенное от цитоплазмы ядерной мембраной. Это уже не голая ДНК, а сложный комплекс нуклеиновых кислот с белками, собранный в ***хромосомы***, число и морфология которых специфичны для каждого вида. В ядре можно увидеть ядрышко - округлое темно-окрашенное тельце, место образования рибосом.

Вся цитоплазма пронизана сетью мембранных каналов – ***эндоплазматическим ретикулумом***. К внешней поверхности мембраны прикреплены рибосомы. Они синтезируют белок, который поступает в полость ретикулума. В мембрану встроены ферменты, которые регулируют синтез и распад веществ в клетке. Каналы эндоплазматического ретикулума соединены со всеми органеллами. Эндоплазматический ретикулум играет очень важную роль в синтезе и переносе веществ в клетке. Другой органеллой, предназначенной для транспорта веществ по клетке и выведения их наружу, является ***комплекс Гольджи*** - система плоских мембранных мешочков, сложенных наподобие стопки тарелок, и ассоциированных с ними пузырьков. Такая стопка называется диктиосомой. Их в клетке может быть от 1 до сотни. Пузырьки могут отшнуровываться и отходить. Содержимое пузырьков может использоваться, например, при синтезе цитоплазматической мембраны и клеточной стенки.

В цитоплазме клеток эукариот находятся также ***вакуоли*** – мешочки, заполненные водянистым раствором и окруженные мембраной – тонопластом. В вакуоли поступает избыточная вода, неметаболизируемые вещества, в том числе и токсичные. Вакуоли являются резервуарами запасных веществ, которые по мере надобности могут выходить в цитоплазму. Мешочки меньшего размера, окруженные мембраной – лизосомы и пероксисомы – выполняют функции утилизации отходов. Внутри лизосом находятся гидролитические ферменты, разрушающие макромолекулы — белки, углеводы и жиры до низкомолекулярных продуктов, которые могут через мембрану диффундировать в цитозоль. Внутри лизосом поддерживается кислая рН, так как ферменты активны в кислой среде.

Очень важными органеллами являются ***митохондрии***.Это силовые установки клетки, в митохондриях химическая энергия углеводов и жиров превращается в такие формы, которые могут использоваться клеткой. Митохондрии представляют собой мешочки округлой или вытянутой формы, стенка которых состоит из двух мембран. Наружная мембрана гладкая, обладает обычной проницаемостью. Внутренняя мембрана обладает избирательной проницаемостью, в ней есть впячивания — кристы, в нее встроены ферменты энергетического метаболизма. Полость митохондрии заполнена матриксом, который состоит из множества ферментов, рибосом, ДНК, РНК, промежуточных продуктов распада жирных кислот и углеводов.

Клетки зеленых водорослей улавливают энергию солнечного света и превращают ее в химическую энергию при помощи ***хлоропластов***. Хлоропласт окружен оболочкой из двойной мембраны и содержит сложную внутреннюю систему мембран. Внутренние мембраны, имеющие вид уплощенных мешочков, называются тилакоидными мембранами. Они погружены в водянистую строму. Иногда тилакоиды упакованы в пачки – граны. На мембранах хлоропластов закреплены молекулы хлорофилла и ферменты, участвующие в процессе фотосинтеза. В результате их слаженной работы из углекислого газа и воды под действием энергии солнца образуются молекулы глюкозы и выделяется кислород. Глюкоза может в дальнейшем использоваться клеткой или полимеризоваться в крахмал и откладываться в пластидах.

Митохондрии и хлоропласты присутствуют в клетке в большом количестве. Они имеют собственную ДНК и рибосомы, способны к самостоятельному воспроизведению. На основании структурных и функциональных признаков хлоропластов и митохондрий (ДНК, РНК и рибосомы бактериального типа) считается, что они происходят от прокариотических клеток, поглощенных чужими клетками в процессе эволюции и приспособившихся к симбиотическому существованию.

Строение клетки эукариот значительно более совершенно, чем бактерий. Разделение клетки на отдельные полости обеспечивает одновременное протекание многих физиологических процессов, иногда даже несовместимых между собой. Закрепление ферментных комплексов на мембранах делает обмен веществ более эффективным, повышает энергетический и биосинтетический потенциал клетки.

В таблице приведены сравнительные характеристики прокариотных и эукариотных клеток.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Признак** | **Прокариоты** | **Эукариоты** |
| Цитоплазматическая мембрана | есть | есть |
| Ядерная мембрана | нет | есть |
| Митохондрии | нет | есть |
| Эндоплазматический ретикулум | нет | есть |
| Аппарат Гольджи | нет | есть |
| Рибосомы | есть | есть |
| Клеточная стенка | есть, состоит из гликопептидов | есть, состоит из целлюлозы |
| Капсула | есть | нет |
| Вакуоли | нет | есть |
| Хромосомы | только ДНК | структуры из ДНК и белка |
| Фотосинтетический аппарат | мембраны с хлорофиллом | хлоропласты |

2. Микробная биотехнология. Значение биотехнологии для различных областей человеческой деятельности.

К одним из самых древних областей человеческой деятельности относятся хлебопечение, виноделие, пивоварение, которые в основе своей имеют не что иное, как жизнедеятельность микроорганизмов – хлебопекарных и винных дрожжей. Сюда же можно отнести получение кисломолочных продуктов, сыров с помощью молочнокислых бактерий, пищевого уксуса с помощью уксуснокислых бактерий. Следы такого рода деятельности были обнаружены у древних народов, живших 8 тысяч лет назад. С тех пор как были открыты микроорганизмы и определены их физиологические особенности, практическое использование микробов стало осознанным, было поставлено на промышленную основу и получило бурное развитие.

Промышленное использование микроорганизмов потребовало разработки специальной аппаратуры и технологий. Технология это совокупность способов, приемов для получения из исходного материала (сырья) некоторого практически ценного продукта.

Все основные технологии можно разделить на три основных класса.

1. ***Физико-механические технологии*** – исходный материал (сырье) в процессе получения продукта меняет форму или агрегатное состояние, но не изменяет своего химического состава. Примерами могут служить изготовление досок из бревен или отливка металлических изделий.
2. ***Химические технологии*** – в процессе получения продукта сырье претерпевает изменения химического состава. Примеры: производство из природного газа спирта, полиэтилена, синтетического каучука, производство из природного газа и воздуха удобрения аммиачной селитры, получение красителей и многих лекарств из простых химических соединений (кислоты, щелочи, бензола и др.).
3. ***Биотехнологии*** в отличие от физико-механических и химических технологий предполагают использование живых организмов или их компонентов.

По определению Европейской Биотехнологической Федерации (ЕБФ) **биотехнология является такой интеграцией естественных и инженерных наук, при помощи которой использование клеток, клеточных структур и отдельных биомолекул дает возможность получения качественно улучшенных и дешевых продуктов медицинского и промышленного назначения или проведения других полезных манипуляций.**

Современная биотехнология родилась на стыке нескольких наук. Она опирается на теоретические и методические положения микробиологии, биохимии, генетики, молекулярной биологии, а также использует достижения органической, неорганической и аналитической химии, процессы и аппараты химической и пищевой промышленности.

Условно можно выделить несколько направлений полезной для человека деятельности микроорганизмов.

1. Наращивание клеточной массы, которая представляет собой продукт (получение пекарских дрожжей, производство белково-витаминного концентрата, многих вакцин).
2. Производство продуктов микробного биосинтеза, к числу которых относятся антибиотики, гормоны, ферменты, аминокислоты, витамины красители и др.
3. Биотрансформация – процесс, в результате которого под воздействием биохимической деятельности микроорганизмов или их ферментов происходит изменение химического состава исходного вещества (получение стероидных гормонов).
4. Очистка окружающей среды от загрязняющих ее веществ (очистка воды, переработка твердых и жидких отходов, нейтрализация химических стоков и газовых выбросов и т.д.).
5. Производство энергоносителей (биогаза, этанола).
6. Выщелачивание, то есть перевод в растворенное состояние некоторых веществ, находящихся в твердых телах (выщелачивание из руд ценных металлов - меди, цинка, урана и др.).

По сравнению с химическими технологиями биотехнологии имеют следующие основные преимущества:

- возможность получения специфичных и уникальных природных веществ, часть из которых (белки, ДНК) еще не удается получить путем химического синтеза;

- проведение биотехнологических процессов при относительно невысоких температурах и давлениях;

- высокая скорость роста микроорганизмов, во много раз превышающая скорость роста животных и растений;

- в качестве сырья в процессах биотехнологии можно использовать дешевые отходы сельского хозяйства и промышленности;

- биотехнологические процессы по сравнению с химическими обычно более экологичны, имеют меньше вредных отходов, близки к протекающим в природе естественным процессам;

- как правило технология и аппаратура в биотехнологических производствах более просты и дешевы.

# Производство аминокислот и белка

В соответствии с нормами питания человек должен ежедневно получать с пищей 60-120 г полноценного белка, в рационе сельскохозяйственных животных на каждую кормовую единицу нужно не менее 110 г белка.По прогнозам к2050 году население Земли возрастет до 10 млд человек, и для обеспечения его потребности в продукции сельского хозяйства нужно будет увеличить объемы производства на 75%. Традиционными методами этого достичь нельзя. Потребности в белковых продуктах можно удовлетворить, используя микроорганизмы, которые на 50% состоят из белка. Например, в ферментере объемом 300 м3 за сутки можно выработать 1 т микробного белка (365 т в год). Чтобы такое же количество белка выработать с помощью крупного рогатого скота, нужно иметь 30000 голов. Если же использовать для получения такой скорости производства белка бобовые растения, например, горох, то потребуется иметь поле площадью 5400 га. Для производства белка можно выращивать бактерии, дрожжи и микроводоросли. Известны попытки использования биомассы мицелиальных грибов рода *Fusarium*, на основе которых производят пищевой продукт микопротеин. Для вкуса и цвета в него вводят специальные пищевые добавки. В качестве пищевых добавок используются препараты из пивных и пищевых дрожжей. Белок микробного происхождения добавляется в пищу человека только в очищенном от примесей виде.

Требования к белкам микробного происхождения, добавляемым в корм животным, не такие высокие. Белки хорошего состава можно получить из культивируемых дрожжей. Высушенная дрожжевая масса гранулируется и используется как ***белково-витаминный концентрат***, содержащий до 60% белковых веществ. Вместе с тем в кормовых дрожжах встречаются вредные примеси, поэтому дрожжевой белок добавляется в корма животных ограниченно – не более 5-10% от сухой массы корма. Известно более 30 видов бактерий, которые также могут быть использованы в качестве источника полноценного кормового белка. За счет высокого содержания белка добавление 1 т БВК в корма обеспечивает экономию 7 т фуражного зерна и дополнительное производство 800 кг свинины или 5 т мяса птицы. Микробы-производители белка могут расти на различных достаточно дешевых средах (метанол, этанол, природный газ, нефтепродукты). Наиболее продуктивным сырьем для получения микробного белка следует считать клетчатку, причем преимущественно используются отходы сельского хозяйства: подсолнечная лузга, кукурузные кочерыжки, солома и др.

В рационе человека и животных имеет большое значение не только количество белка, но и его состав. Белки состоят из отдельных звеньев – ***аминокислот.*** Если растения и большинство микроорганизмов способны синтезировать все составляющие белок аминокислоты из углекислоты, воды, аммиака и минеральных солей, то человек и животные не могут производить некоторые аминокислоты, которые называются незаменимыми. Это валин, лейцин, изолейцин, лизин, метионин, треонин, триптофан и фенилаланин. Эти аминокислоты должны поступать в организм в готовом виде с пищей, их отсутствие вызывает тяжелые заболевания у человека и снижение продуктивности сельскохозяйственных животных. Например, в зерне пшеницы недостаточно лизина, а в зерне кукурузы – лизина, триптофана и треонина. Внесение в корма лизина высвобождает фураж и увеличивает объем мясной продукции: на 1 т лизина высвобождается 40-50 т фуражного зерна и получается дополнительно более 10 т мяса.

Найдены микроорганизмы, в которых синтез отдельных аминокислот происходит достаточно активно. На их основе разработаны технологии производства незаменимых аминокислот. Среди соединений, получаемых биотехнологическими методами, аминокислоты занимают первое место по объему производства (более 500 тыс.т в год). Больше всего производится глутаминовой кислоты (глутамат натрия) и лизина. Помимо применения в качестве пищевых добавок аминокислоты используются в медицине для лечения ряда заболеваний, а также в пищевой промышленности. В таблице 1 указаны области применения некоторых производимых микроорганизмами аминокислот.

Таблица 1. Практическое использование некоторых аминокислот.

|  |  |
| --- | --- |
| **Аминокислота** | **Область использования** |
| Глицин | Подсластитель, антиоксидант, бактериостатик |
| Аспарагиновая кислота | Усилитель вкуса, сырье для синтеза подсластителя аспартама |
| Глутаминовая кислота | Усилитель вкуса, препарат для лечения психических заболеваний |
| Гистидин | Противовоспалительное средство |
| Метионин | Пищевая и кормовая добавка |
| Цистеин | Фармацевтический препарат |
| Треонин и триптофан | Пищевая и кормовая добавки |
| Фенилаланин | Сырье для получения аспартама |
| Лизин | Пищевая и кормовая добавка, сырье для получения искусственных волокон и пленок |

**Производство органических кислот**

Органические кислоты и их соли широко используются в пищевой, фармацевтической, кожевенной, текстильной, химической, металлургической и других отраслях промышленности. Большинство кислот, используемых для технических нужд, производится химическим путем на основе нефтехимического сырья и продуктов сухой перегонки древесины. В тех случаях, когда химический синтез кислот является сложным и экономически невыгодным, или если они имеют пищевое или медицинское назначение, кислоты производят микробиологическим путем. С помощью микроорганизмов может быть получено более 50 различных органических кислот, методы получения их разработаны достаточно подробно. В настоящее время только 6 органических кислот производится биотехнологическим путем в промышленном масштабе. Причем лимонную, глюконовую, кетоглюконовую и итаконовую кислоты производят только микробиологическим путем, а молочную и уксусную - как химическим, так и микробиологическим методами.

***Уксусная кислота*** имеет наибольшее значение среди органических кислот. Ее используют при выработке многих химических веществ, включая каучук, пластмассы, волокна, инсектициды. Микробиологический способ производства уксусной кислоты состоит в превращении этанола в уксусную кислоту при участии бактерий Acetobacter и *Gluconobacter.* Процесс идет в анаэробных условиях в режиме непрерывного культивирования продуцента.

***Лимонную кислоту*** широко используют в пищевой (приготовление соков, кондитерских изделий), фармацевтической и косметической промышленности. Ею заменяют фосфаты в составе детергентов, так как она полностью метаболизируется живыми организмами и не загрязняет окружающую среду. Лимонная кислота образует хелаты с металлами, поэтому ее применяют для их очистки. Производят лимонную кислоту из сахара или из отходов его производства – мелассы, из содержащих глюкозу гидролизатов древесины и зерна. Мировое производство лимонной кислоты составляет более 300 тыс.т в год. Для промышленного производства лимонной кислоты используют, главным образом, культуру гриба *Aspergillus niger* и *A. wentii*.

***Глюконовая, кетоглюконовая, итаконовая*** и ***молочная кислоты*** используются в пищевой промышленности в качестве подкислителей. Глюконат натрия, в виде которого обычно выделяют глюконовую кислоту, используют для извлечения металлов из руд, борьбы с коррозией, как моющее средство, в качестве медицинского препарата. Итаконовая кислота применяется при производстве пластмасс и красителей. Молочную кислоту используют при выделке кож и как сырье для производства биоразлагаемого полимера полилактата.

## Биотехнологии медицинского назначения

Биотехнология предлагает новые подходы к разработке и производству лекарственных, профилактических и диагностических медицинских препаратов, а также позволяет производить в достаточных количествах широкий спектр лекарственных средств, которые ранее были малодоступны.

К самому большому классу лекарств, получаемых путем микробного синтеза, относят ***антибиотики***. Сегодня известно более 6000 видов антибиотиков, более 100 из которых находят применение в медицинской практике, в том числе при лечении таких тяжелых заболеваний, как туберкулез, менингит, плеврит, пневмония. Отдельные антибиотики применяют при лечении онкозаболеваний.

Важный вклад микробной биотехнологии в медицину состоит в получении профилактических препаратов - ***вакцин и сывороток***, причем этот вид продукции не имеет дублера в химической промышленности. Вакцины – специально выращенные болезнетворные микроорганизмы и их компоненты (антигены), которые после специальной обработки вводят в виде ослабленной или убитой культуры в организм человека и обеспечивают за счет этого создание у него иммунитета к данному заболеванию. Сейчас применяют также генно-инженерные вакцины, обладающие рядом преимуществ. Сыворотка – полученные на антиген готовые антитела, вводимые уже заболевшему человеку или животному для быстрого ответа на инфекцию.

***Витамины*** необходимы в малых количествах любому организму, они выполняют в нем каталитические функции, ускоряя различные процессы обмена веществ. Первоначально витамины получали из овощей и фруктов, рыбы. Например, для выделения 1 г рибофлавина (В2) требовалась 1 т моркови или 160 кг печени трески. В 1935 году был обнаружен активный продуцент рибофлавина – гриб *Eremothecium ashbyii*, способный при выращивании на 1 т питательной среды синтезировать 25 кг витамина В2.

Большое количество витаминов группы В содержится в биомассе пивных дрожжей. Витамины являются относительно простыми соединениями, поэтому многие из них сейчас синтезируют химическим путем. Но самые сложные по строению витамины В2, В12, бета-каротин (предшественник витамина А) и эргокальциферол (предшественник витамина D) целесообразнее получать с помощью микроорганизмов.

Следующий класс веществ, производимых биотехнологическим путем, - гормоны. К традиционным микробиологическим продуктам относятся ***стероидные гормоны*** – кортизон, преднизолон, которые широко применяют при лечении различных аллергических заболеваний, бронхиальной астмы, ревматоидного артрита и др. С помощью микроорганизмов производится также ***гормон роста*** – соматотропин.

Среди лекарственных средств особое место занимают ***ферменты***. Так, известно применение протеолитических ферментов при лечении заболеваний пищеварительных органов. Эти же ферменты используют при лечении ожоговых поражений и различных ран для удаления некротических тканей. При лечении патологий обмена веществ применяют также липазы. Протеиназы с фибринолитичесим действием используют для растворения тромбов. С помощью таких препаратов, как урокиназа и стрептокиназа, лечат тромбоз коронарных сосудов сердца, легких, конечностей.

Разработаны биотехнологии производства иммуномодуляторов, кровезаменителей, инсулина, интерферона, биоразлагаемых полимеров для хирургических швов, различных диагностических средств. Число новых препаратов постоянно увеличивается. Среди примерно 50 новых видов лекарств, вакцин и диагностикумов, появляющихся на рынке ежегодно, 10-15 получены с помощью биотехнологических методов.

### Биотехнологии для сельского хозяйства

Сельское хозяйство можно подразделить на две основные отрасли – животноводство и растениеводство. Биотехнология имеет достижения, помогающие обеим отраслям.

Промышленная биотехнология поставляет животноводству ***кормовой белок*** или ***белково-витаминные концентраты, незаменимые аминокислоты*** и ***кормовые антибиотики, стимуляторы роста животных*** (см. предыдущие разделы). Кроме того, в настоящее время в разных странах производят более 100 видов ***биопрепаратов***, применяемых в растениеводстве. Это препараты микробного происхождения против вредных насекомых: энтобактерин, инсектин, токсобактерин, боверин, вирин, а также гербициды, фунгициды, бактериальные удобрения: нитрагин, азотобактерин, фосфоробактерин. Использование биологических средств защиты растений регуляторов роста, микробных удобрений позволяет снизить дозы применяемых химических средств защиты и минеральных удобрений, что приводит к повышению качества продукции и созданию экологически чистых технологий.

### Биотехнологии для охраны природы

Основой биотехнологических методов защиты окружающей среды является многообразие путей обмена веществ микроорганизмов: среди множества вариантов найдется хотя бы один представитель, способный утилизировать самые необычные, в том числе и токсичные соединения.

***Биологическая очистка стоков***. Существуют микроорганизмы, для которых загрязнения, содержащиеся в сточных водах, являются питательными веществами. Разработан метод аэробной биологической очистки сточных вод с помощью активного ила – сложной смеси микроорганизмов. В больших резервуарах с перемешиванием и постоянной аэрацией жидкости перерабатываются большие объемы хозяйственно-бытовых и промышленных стоков. Обычная очистка удаляет в основном органические загрязнения. Если же в стоках содержатся тяжелые металлы (медь, никель, кадмий, хром свинец и др.), то требуются дополнительные меры очистки. Имеются определенные виды микроорганизмов, которые способны осаждать на себя (сорбировать) металлы, растворенные в жидкости. Концентрация металлов при этом возрастает настолько, что после тепловой обработки биосорбент можно рассматривать как сырье для получения цветных металлов.

***Биокомпостирование твердых отходов***. Аналогом аэробной очистки стоков является аэробное биокомпостирование твердых отходов. Твердые отходы смешиваются с микроорганизмами, разлагающими вредные загрязнения, и балластным материалом типа торфа, который обеспечивает доступ кислорода к микроорганизмам. Это позволяет превратить отходы в удобрение или просто использовать их в качестве подсыпки для дорог, в строительстве и других случаях.

***Анаэробный способ переработки отходов*** основан на свойстве некоторых микроорганизмов в отсутствии кислорода разлагать органические вещества с образованием ***биогаза***, состоящего на 65% из метана и на 30% из диоксида углерода. Процесс протекает в специальных аппаратах – метан-тенках, где накапливающийся газ находится под некоторым давлением. Метановое брожение применяют для переработки избыточного осадка активного ила, образующегося при работе установок биологической очистки сточных вод. Сброженный осадок, если только он не содержит повышенных концентраций тяжелых металлов, успешно используют как удобрение. От лучше исходного осадка по составу, и в нем почти полностью отсутствуют болезнетворные организмы. Метановое брожение применяют также для переработки концентрированных жидких отходов. С середины XX века процесс анаэробного сбраживания с получением биогаза стал очень популярен применительно к отходам животноводческих ферм, особенно в Индии и Китае. Выделяющийся при переработке отходов метан может быть использован для отопления.

***Биологическая очистка газовых выбросов***. Многие выбросы промышленных предприятий в атмосферу содержат вредные или дурно пахнущие примеси. Для их очистки применяют биофильтры, заполненные насадкой, на которой закреплены специальные микроорганизмы. Вредные примеси сорбируются на насадке и затем потребляются и обезвреживаются микроорганизмами.

***Биодеградация нефтяных загрязнений на почве и воде***. При аварийных разливах нефти загрязненные территории обрабатывают специально выращенными нефтеокисляющими микроорганизмами, внося различные добавки для их азотистого и фосфорного питания. Это позволяет утилизировать углеводы нефти, превращая их в биомассу микроорганизмов и диоксид углерода.

#### Биотехнология и энергетика

Потребление энергетических ресурсов в мире намного превосходит процессы восстановления запасов полезных горючих ископаемых. Все ускоряющиеся темпы развития цивилизации приводят к истощению энергетического потенциала планеты. Мощный потенциальный источник энергии – биомасса зеленых растений, которые являются консервантами солнечной энергии. Растительный покров земли составляет более 1800 миллиардов тонн сухого вещества, что энергетически эквивалентно 3 . 1022 Дж и соответствует запасам энергии всех полезных ископаемых. В отличие от нефти, газа или каменного угля растения являются возобновляемым сырьем. Превращение растительной биомассы в энергию может помочь решить энергетические проблемы. Значительную долю энергетического потенциала растительной биомассы используют путем непосредственного сжигания дров, древесного угля, сухого навоза. Однако такое использование малоэффективно, так как при этом реализуется только 10% энергозапасов, окружающая среда загрязняется дымом, в атмосфере накапливается диоксид углерода. Конверсия биомассы в ***биогаз*** и ***биоэтанол*** дает возможность реализовать 50-80% потенциальной энергии без загрязнения атмосферы и практически без отходов (отходы служат высококачественным удобрением).

Впервые идея применения этанола для энергетических целей возникла в 1975 году в Бразилии, а к 1997 году было сэкономлено 35,6 миллиардов долларов на уменьшении потребления нефти. Затем подобная программа была разработана в США и Канаде. Начинается применение биоэтанола и в нашей стране. Биоэтанол используется в качестве моторного топлива либо в чистом виде, либо с добавлением бензина, например, газохол содержит 10% этанола, биодизель – 15, газолин – 24%. Масштабы производства этанола с каждым годом увеличиваются.

### Современные методы биотехнологии

Полученные в последние десятилетия научные данные не только существенно расширили представления о микроорганизмах, но и позволили создать новые высокопродуктивные формы. Открытие методов получения наследуемых изменений, или ***мутаций***, позволило усилить полезные свойства промышленных микроорганизмов и ослабить нежелательные. Новые штаммы обеспечивают значительно большую эффективность и безопасность их использования. Например, активность современных антибиотиков в 5000 раз превосходит активность первого пенициллина, полученного в 30-х годах XX века. Формы промышленных микроорганизмов с повышенной продуктивностью при тех же затратах на производство позволяют получить больше витаминов, аминокислот, антибиотиков и других ценных веществ. Микроорганизмы с измененной формой питания способны использовать более дешевый субстрат.

***Генетическая инженерия*** видоизменила структуру и содержание современной биотехнологии. Во-первых, существенно повысилась продуктивность промышленных микроорганизмов – продуцентов классических продуктов путем введения дополнительных генов, увеличения их количества и активности. Во-вторых, вводя в микробную клетку новые гены, удалось изменить питательные потребности микроорганизма. Далее, микроорганизмы «научили» синтезировать несвойственные им вещества и таким образом увеличили разнообразие биотехнологической продукции. Некоторые белки человека, клонированные в микробной клетке, в том числе инсулин, интерфероны, интерлейкины, находят в настоящее время терапевтическое применение. Наконец, подверглась пересмотру вся логика селекции микроорганизмов-продуцентов. Так, если раньше искали активный штамм и затем создавали конкретную биотехнологию с учетом физиологических особенностей продуцента, то теперь можно взять приспособленный к условиям производства штамм и ввести в него генную конструкцию, которая обеспечит синтез целевого продукта.

К числу важных практических достижений генной инженерии необходимо отнести получение диагностических препаратов. Сегодня уже более 200 новых диагностикумов введены в медицинскую практику, разработаны способы диагностики такого опасного заболевания, как СПИД.