

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
УНИВЕРСИТЕТ ИТМО

А.Г. Шлейкин

ОСНОВЫ БИОКОНВЕРСИИ

Учебно-методическое пособие

 **УНИВЕРСИТЕТ ИТМО**

Санкт-Петербург

2015

УДК 663/664

Шлейкин А.Г. Основы биоконверсии: Учеб.-метод. пособие. – СПб.: Университет ИТМО, 2015. – 57 с.

Представлены содержание дисциплины, методические указания к СРС, тесты для контроля знаний, варианты контрольных работ и вопросы к зачёту студентов по учебной дисциплине «Биоконверсия пищевых систем».

Предназначено для самостоятельной работы студентов бакалавриата направления 38.03.02 Менеджмент (всех форм обучения).

Рецензент: доктор техн. наук, проф. Т.П. Арсеньева

Рекомендовано к печати Советом факультета пищевых биотехнологий и инженерии, протокол № 2 от 03.04.2015 г.



Университет ИТМО – ведущий вуз России в области информационных и фотонных технологий, один из немногих российских вузов, получивших в 2009 году статус национального исследовательского университета. С 2013 года Университет ИТМО – участник программы повышения конкурентоспособности российских университетов среди ведущих мировых научно-образовательных центров, известной как проект «5 – 100». Цель Университета ИТМО – становление исследовательского университета мирового уровня, предпринимательского по типу, ориентированного на интернационализацию всех направлений деятельности.

© Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, 2015

© Шлейкин А.Г., 2015

ВВЕДЕНИЕ

Биоконверсия (биотрансформация) – это раздел биотехнологии, наука по изучению превращения одних органических соединений биологического сырья в другие под действием ферментных систем растительного, микробного и животного происхождения.

Современная биотехнология – отрасль науки и производства по использованию биологических процессов в производственных целях. Люди использовали биотехнологию многие тысячи лет, не подозревая об этом, – варили пиво, пекли хлеб, производили сыр и кисломолочные продукты. Становление современной биотехнологии стало возможным благодаря крупным открытиям, сделанным в конце XIX– начале XX вв. в разных областях науки, и, в первую очередь, в биохимии, микробиологии и генетике.

Разработка методов генной инженерии, основанных на создании рекомбинантных ДНК, привела к тому «биотехнологическому буму», свидетелями которого мы являемся. Однако, современное состояние биотехнологии это лишь ростки дерева, созревание которого ожидается в нынешнем тысячелетии. Биотехнология многолика. Она использует достижения различных отраслей науки, таких как микробиология, биохимия, генетика, электроника, химическая, биохимическая и механическая технологии, научные основы получения пищевых продуктов и пищевые технологии.

Таким образом, в получение биотехнологических продуктов вносят вклад одновременно несколько научных отраслей, наиболее важные из которых:

- генетическая инженерия (техника рекомбинантных ДНК);
- биокатализ – выделение, иммобилизация и стабилизация ферментов;
- культивирование клеток микро- и макроорганизмов;
- технология ферментации – производство и переработка отходов;
- биоэлектрохимия.

Следовательно, биотехнология является многоотраслевым и чрезвычайно наукоемким производством. В научных и промышленных целях биотехнология использует биохимические, микробиологические, химико-аналитические и другие методы исследований, разработанные и применяемые в фундаментальных науках, лежащих в ос-

нове биотехнологии. Формирование биотехнологии как самостоятельного научного направления привело к развитию собственных методов. Это методы культивирования биообъектов, ферментации биомассы, изоляции и очистки получаемых продуктов.

Объектами биотехнологии служат различные живые организмы: вирусы, бактерии, грибы, клетки, ткани растений и животных, которые являются продуцентами разнообразных веществ. В зависимости от вида объекта различают: микробиотехнологию, фитобиотехнологию и зообиотехнологию. Современная биотехнология является преимущественно микробиотехнологией, так как наиболее часто в качестве ее объектов применяются микроорганизмы. При определенных условиях они, как правило, легко размножаются в питательных средах. Относительная простота строения генетического аппарата и наличие плазмид у бактерий позволяет использовать их в генной инженерии.

Микроскопические грибы, характеризующиеся высоким разнообразием видов и форм, широко применяются для производства кормовых добавок, богатых белками и витаминами, а также для получения антибиотиков. В ряде стран из грибов получают белки пищевого назначения – микопротеины.

Интенсивно развивающаяся фитобиотехнология основана на культивировании каллусных тканей или клеток растений. В генной инженерии используют также протопласты – клетки растений, лишенные стенок. Растительные клетки служат источниками многих лекарственных препаратов и других биологически активных веществ.

Самостоятельной ветвью биотехнологии является зообиотехнология, в которой используются клетки животных и человека. Культивирование клеток животных – наиболее трудоемкий и сложный процесс. Тем не менее, в настоящее время разработаны способы промышленного получения противовирусного белка интерферона из лимфобластов человека и моноклональных антител из клеток – гибридом, получаемых путем слияния опухолевых клеток, способных к неограниченному росту, и лимфоцитов, продуцирующих специфические антитела. Эмбриональные ткани используются для репродукции вирусов и в производстве противовирусных вакцин. Клетки и ткани животных являются также источниками высокоэффективных иммуномодуляторов, применяющихся для коррекции нарушений иммунитета.

Биоконверсия изучает не только превращения одних природных веществ в другие, но такие сложные процессы, как переработка и трансформация пищевого сырья в корма и пищевые продукты, детоксикацию пищевых продуктов и кормов, биологическую очистку сточных вод и объектов природы (почв, водоемов). Наиболее важной областью применения биоконверсии является пищевая промышленность.

В пищевой биотехнологии биоконверсионные процессы используются на всех этапах производства пищевых продуктов.

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ БИОКОНВЕРСИИ

Современное промышленное производство продуктов биосинтеза представляет собой единую биотехнологическую систему, которая складывается из последовательных стадий и операций, количество и особенности которых зависят от вида производимой продукции и её товарной формы.

Структура и особенности биотехнологии могут охватывать отдельные операции или процесс в целом. Совершенствование биотехнологического процесса может привести к созданию новых структурных единиц и к ликвидации устаревших.

Определяющими факторами в данном случае являются:

- используемый биологический агент (объект);
- субстрат и его биохимические и биофизические характеристики;
- аппаратное оформление, включая системы контроля и управления;
- технологический режим или способ реализации;
- соответствие технологических процессов, оборудования, помещений, качества продукции и её упаковки требованиям стандартов.

Биологическим агентом (объектом) биотехнологической системы может быть клетка (прокариот, эукариот) или вирусная частица. Субстратом является питательная среда для культивирования клеток, продуктом – биомасса клеток, вирусов или синтезируемое клетками вещество, которому при соответствующей обработке придается товарный вид. Одним из основных элементов аппаратного обеспечения биотехнологического процесса является биореактор (аппарат-культиватор, ферментёр). При определенных параметрах и режимах

культивирования в биореакторах можно выращивать практически любые клетки.

Биологическими объектами (агентами) биотехнологии являются различные представители живой природы, которые делятся на три надцарства: акариоты (безъядерные), прокариоты (предъядерные) и эукариоты (ядерные) и 5 царств: вирусы, бактерии, в том числе микроскопические водоросли, грибы, а также растения и животные, в том числе простейшие.

Вирусы представляют собой бесклеточные частицы размером несколько нм и видны только в электронном микроскопе. Они являются облигатными, то есть обязательными, паразитами и могут размножаться только в клетках других организмов. Вне клеток вирусы существуют в виде вирионов, представляющих собой комплекс нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК) с белком, связанных между собой нековалентными связями. Белковые молекулы, окружающие РНК или ДНК, создают оболочку вируса, называемую капсидом. По типу нуклеиновой кислоты вирусы делятся на РНК-содержащие (вирусы растений, а также возбудители гриппа, полиомиелита, СПИДа и других заболеваний) и ДНК-содержащие (бактериофаги, некоторые вирусы человека и животных, например, герпеса, оспы и другие). Наряду с типичными вирусами открыты вириоды. Они представляют собой частицы, состоящие из низкомолекулярных РНК (240–400 нуклеотидов), и не содержащие капсидов.

Бактерии представляют собой безъядерные, одноклеточные (как правило) организмы, размером 0,2–10,0 мкм и имеющие определенную форму (палочки, кокки, спиралевидные формы и т. д.). Внутреннее содержимое бактериальной клетки (цитоплазма) изолировано от внешней среды клеточной оболочкой, состоящей из тонкой мембраны и стенки, на которую приходится до 20 % сухого вещества бактерий. Клеточная стенка имеет сложное строение и придает бактериальной клетке определенную форму. Исключение составляют микоплазмы, у которых нет клеточной стенки и, соответственно, определенной формы. Бактериальные клетки, лишенные клеточной стенки называются протопластами. Протопласты используются в клеточно-инженерных исследованиях. Бактерии отличаются чрезвычайным разнообразием по условиям обитания, приспособляемости, способам питания и биоэнергетическому образованию, а также по отношению к макроорганизмам – животным и растениям. Среди них выделяют

наиболее древние формы, археобактерии, способные жить в экстремальных условиях. Так, для галобактерий, обнаруженных в морских солевых растворах, оптимальной средой обитания является концентрированный раствор поваренной соли (3,5–5,0 моль/л). Термоацидофильные бактерии способны жить в горячих источниках, на склонах вулканов и в терриконах угольных шахт при pH 1–3 и температурах 59–105 °С. Эубактерии являются более чувствительными к условиям окружающей среды. Многие из них способны паразитировать в многоклеточных организмах и вызывать болезни человека, животных и растений. Болезнетворные микроорганизмы называются патогенными. Например, все известные микоплазмы являются патогенными. Паразиты бывают облигатными и факультативными. Облигатные паразиты не могут обитать вне организма. К ним относятся, в частности, возбудители сифилиса и гонореи. Факультативные (необязательные) паразиты, например, синегнойная палочка или вульгарный протей, обитающие во внешней среде, при снижении защитных сил организма могут вызвать инфекцию. Неболезнетворные бактерии, способные обитать на слизистых оболочках и кожных покровах, но не питающиеся “живым белком” называются сапрофитами. Благодаря большому разнообразию бактерий, обладающих широким диапазоном биохимического состава и своеобразием протекающих в них реакций, бактерии наиболее часто служат биотехнологическими объектами. Из биомассы бактерий получают различные органические вещества, в частности, аминокислоты, белки, в том числе ферменты. Бактерии являются удобным объектом для генетических исследований, так как быстро размножаются и содержат плазмидную ДНК, способную включать в свой состав чужеродные фрагменты. Генетически модифицированные и иммобилизованные на носителях клетки бактерий используются в научно-исследовательских и промышленных целях. Наиболее изученной и широко применяемой в генноинженерных исследованиях клеткой является кишечная палочка, обитающая в толстом кишечнике человека.

Грибы, насчитывающие десятки тысяч видов, сочетают в себе черты клеток растений и животных. Они имеют клеточное ядро, как и растения – прочную клеточную стенку; аналогично клеткам животных они нуждаются в некоторых витаминах и способны синтезировать свойственные животным полисахариды: хитин и гликоген. Наибольший интерес для биотехнологии представляют микроскопиче-

ские грибы, к которым относятся дрожжи, применяемые в хлебопечении, пивоварении и в молочной промышленности, а также плесневые грибы и другие микроорганизмы. Грибы, в частности, плесени, широко используются в качестве продуцентов для получения спиртов, органических кислот, антибиотиков, ферментов, различных биологически активных веществ и кормового белка.

Самостоятельную группу организмов, представляющих собой симбиоз (сожитительство) грибов с водорослями или с цианобактериями, составляют лишайники, которые являются перспективными источниками ряда биологически активных веществ.

Растения, насчитывающие около 500 000 видов, состоят из ядерных клеток, которые имеют сложное строение и выполняют различные специализированные функции. К ним относятся водоросли, являющиеся водными организмами, и высшие растения, обитающие преимущественно на суше. Водоросли отличаются от высших растений тем, что не имеют органов и тканей, а представляют собой слоевища, состоящие из недифференцированных (одинаковых) клеток. Как и другие растения, водоросли обладают способностью к фотосинтезу и богаты различными углеводами и пигментами. Один из видов водорослей – морская капуста используется в пищу. Из водорослей добывают агар-агар и альгинаты – полисахариды, используемые для изготовления микробиологических сред и в пищевой промышленности.

Высшие растения – многоклеточные организмы, имеющие специализированные органы, такие как корни, стебли, листья. Они состоят из тканей, образованных дифференцированными клетками. Ткани различаются химическим составом, строением и выполняют различные функции: механические, покровные, выделительные, проводящие и другие. Особое значение для биотехнологии имеет одна из тканей растений, называемая меристемой. Клетки меристемы способны к делению, благодаря чему осуществляется рост, а также образование тканей и органов растений. Они не утрачивают способности делиться и после удаления из растения. При выращивании на специальных питательных средах меристемные клетки дают массу делящихся клеток – каллус, который можно длительно культивировать, получать из него новые растения или использовать для извлечения нужных веществ. Наиболее сложным, но в то же время и неизмеримо более эффективным, является выращивание отдельных растительных

клеток в жидких средах (в суспензионных культурах). Благодаря способности растений улавливать световую энергию солнца и использовать ее в синтезе органических веществ, растения служат поставщиками питательных веществ для других организмов. Растения составляют большую часть биомассы Земли, поэтому производство и переработка растительного сырья для удовлетворения различных потребностей человека используется с древнейших времен. Являясь богатейшими и незаменимыми источниками разнообразных углеводов, липидов, витаминов и многих других физиологически активных и лекарственных веществ, растения служат прежде всего для их получения. При этом до настоящего времени, несмотря на выдающиеся достижения биотехнологии, используются традиционные способы извлечения биогенных соединений: экстракция, перегонка, фильтрация. Однако все большую роль приобретают технологии получения биологически активных веществ из клеточных культур (биостимуляторы из женьшеня, противораковое средство таксол из коры тиса и др.), а также производство продуктов из генетически модифицированных растений.

Животные бывают простейшими – одноклеточными и высшими – многоклеточными. Как и растения они состоят из ядерных клеток. Среди простейших имеются паразиты и возбудители болезней высших животных и человека. Культивирование их на искусственных средах чрезвычайно затруднено. Однако некоторые простейшие выращиваются и используются для целей биоиндикации, в токсикологических исследованиях и для получения отдельных веществ. Ткани высших животных являются источниками полноценного белка, липидных веществ и некоторых витаминов, необходимых для питания человека. Из органов и крови животных получают различные белковые препараты (альбумин, иммуноглобулины, ферменты), некоторые гормоны и другие биологически активные вещества. Поскольку сырье животного происхождения является наиболее дорогим, а выход конечных продуктов недостаточно высок, то в современных технологиях все чаще используются культуры клеток животных или человека, выращиваемых на искусственных средах (получение интерферона, моноклональных антител). Наиболее перспективным и экономичным способом производства биологически активных веществ является генная инженерия, позволяющая внедрить ген животного в клетку бактерии, которая начинает синтезировать нужное ве-

щество. Так получают в настоящее время человеческий инсулин – гормон белковой природы, без которого невозможен нормальный обмен веществ, гормон роста и некоторые другие вещества.

Клетки растений и животных являются сложно организованными образованиями, состоящими из цитоплазмы и более плотного ядра. В цитоплазме содержатся внутриклеточные органеллы: митохондрии, рибосомы и лизосомы, шероховатые и гладкие мембраны эндоплазматической сети, погруженные в водорастворимую среду клетки – цитозоль. Клетка окружена плазматической мембраной, обладающей избирательной проницаемостью благодаря наличию специальных механизмов транспорта веществ. Клеточные ядра служат для хранения генетической информации, носителем которой является ДНК.

Митохондрии снабжают клетку энергией за счет окисления веществ при участии кислорода. В них синтезируются также собственные белки митохондрий. Это – исключение из общего правила. Все остальные клеточные белки синтезируются на рибосомах.

Лизосомы содержат ферменты для расщепления различных биополимеров.

Мембраны эндоплазматической сети формируют внутреннюю структуру (каркас) клетки, на них осуществляются превращения внутриклеточных веществ, а также реакции обезвреживания чужеродных соединений (ксенобиотиков).

С мембранами эндоплазматической сети связан аппарат Гольджи, представляющий собой систему микротрубочек. В аппарате Гольджи происходят реакции химической модификации белков, а также синтез резервных и секреторируемых из клетки веществ.

Жидкая часть клетки – цитозоль содержит ферменты синтеза и анаэробного окисления веществ, а также низкомолекулярные органические и неорганические соединения.

Особенностью строения растительных клеток является наличие хлоропластов, в которых происходят процессы фотосинтеза. От клеток животных растительная клетка отличается также твердой стенкой, в состав которой входят вещества полисахаридной природы (целлюлоза, гемицеллюлозы, пектины) и полифенольный полимер лигнин.

Практически все биотехнологические процессы тесно связаны с жизнедеятельностью различных групп микроорганизмов – бакте-

рий, вирусов, дрожжей, микроскопических грибов. Микроорганизмы потребляют из окружающей среды вещества, растут, размножаются, выделяют жидкие и газообразные продукты метаболизма, тем самым реализуя те изменения в системе (накопление биомассы или продуктов метаболизма, потребление загрязняющих веществ), ради которых проводят процесс культивирования. Следовательно, микроорганизм можно рассматривать как центральный элемент биотехнологической системы, определяющий эффективность её функционирования.

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ЖИВЫХ ОРГАНИЗМОВ

В живой природе содержатся более 60 химических элементов, относящихся преимущественно к легким элементам таблицы Менделеева. Они делятся на макроэлементы (O, C, H, Ca, N, P, S, Mg, Na, K, Cl, Fe), содержание которых превышает одну тысячную процента от общего состава, микроэлементы (Mn, Zn, Cu, B, Se, Mo, Co, Ni), на долю которых приходится от одной тысячной до одной миллионной процента, и ультра-микроэлементы (Hg, Au, U, Ra и др.), концентрация которых в живой материи составляет менее одной миллионной доли процента. Основную массу живой материи составляют следующие химические элементы (в %): кислород – 65, углерод – 18, водород – 10, азот – 3,0, кальций – 2,0, фосфор – 1,1, калий – 0,35, сера – 0,25.

Из них только кислород и кальций в больших количествах содержатся в земной коре. Кремний, алюминий и железо, также содержащиеся в высоких концентрациях в неорганической природе, в живых организмах встречаются значительно реже. Вероятно, это объясняется тем, что большинство из веществ, составляющих живую материю, образуют легко растворимые и газообразные вещества, что делает их более доступными для ассимиляции организмами. Второй особенностью перечисленных элементов является их способность образовывать кратные связи, что значительно увеличивает возможность синтеза разнообразных соединений, обладающих уникальными свойствами и функциями. Наиболее ярким примером таких биогенных соединений, синтез которых невозможен вне живой структуры, служат макроэргические вещества (АТФ, ГТФ, креатинфосфат и другие), в химических связях которых содержится необычно высокий запас энергии, используемой затем для реакций синтеза, мышечного

сокращения и других процессов жизнедеятельности. Наконец, отмечена зависимость между биологической ролью химических элементов и их положением в системе Д.И. Менделеева. Как правило, при переходе от легких к тяжелым элементам в пределах одной и той же подгруппы возрастает токсичность элементов и, соответственно, снижается их содержание в биомассе (Zn, Cd, Hg). Однако, некоторые тяжелые металлы (Fe, Co, Ni), содержащиеся в небольших количествах в биологически активных соединениях, участвуют в жизненно важных биологических функциях (транспорт кислорода, процессы окисления, кроветворение, каталитические реакции).

Перечень главных физиологических функций важнейших элементов приведен в табл.1.

Таблица 1

Физиологические функции важнейших химических элементов

Химический элемент	Физиологическая роль
H ₂	Входит в состав воды и органических веществ клетки
O ₂	Входит в состав воды и органических веществ клетки, служит акцептором электронов при аэробном дыхании
C, N	Входят в состав органических веществ клетки, белков, нуклеиновых кислот, коферментов
S	Входит в состав белков и некоторых коферментов (кокарбоксилаза)
P	Входит в состав нуклеиновых кислот, фосфолипидов, коферменты
K	Один из главных неорганических катионов клетки, кофактор для некоторых ферментов
Mg	Важный катион клетки, неорганический кофактор для ферментных реакций, в том числе и для реакции с участием АТФ, участвует в связывании ферментов с субстратами, входит в состав хлорофиллов
Mn	Неорганический кофермент для некоторых ферментов, может заменить Mg
Ca	Важный катион клетки, кофактор для некоторых ферментов (протеаз)
Fe	Входит в состав цитохромов и других белков, кофактор для некоторых ферментов
Co	Входит в состав витамина В ₆ и его производных, служащих коферментами
Cu, Zn, Mo	Неорганические компоненты некоторых ферментов

Совокупность веществ, входящих в состав живых организмов, насчитывающих более 2 млн видов, формирует биомассу Земли, составляющую, в пересчете на сухое вещество, более 10^{12} тонн. При этом ежегодно обновляется примерно 10 % от этого количества. В среднем 75 % от всей биомассы приходится на воду. Однако, содержание воды в разных живых объектах широко варьирует: от 5–15 % в семенах растений до 40–60 % в древесине и до 99 % в ткани медуз. Содержание органических веществ в сухом веществе биомассы составляет в среднем 90 %; из них около 50 % приходится на белки, примерно 40 % – на углеводы, нуклеиновые кислоты, липиды и другие низкомолекулярные органические вещества. В разных живых объектах соотношение между разными классами органических веществ различно. Так, в микроорганизмах и в тканях животных преобладают белки (табл. 2), а в растениях – углеводы. Однако, содержание органических веществ даже в разных тканях одного организма различно. Так, концентрация белка в семенах сои может достигать 45 %, а в корнях и плодах растений содержание углеводов доходит до 70–90 % от их сухой массы.

Таблица 2

Химический состав клеток живых организмов

Компоненты	Кишечная палочка, %	Клетки млекопитающих, %
Вода	70	83
Белки	15	10–20
Углеводы	3	1–5
Липиды	2	1–2
ДНК	1	0,3
РНК	6	0,7

Примерно 10 % сухой биомассы представлены минеральными веществами. Наиболее важными из них являются кальций, фосфор, натрий, калий и железо, а также их соединения. Они входят в состав сложных белков, участвуют в нервной проводимости и в работе мышц, в ферментативных реакциях, выполняя роль активаторов или кофакторов, поддерживают осмотическое давление в клетках и тканях. У человека и животных до 4 % сухого вещества приходится на

кальций. Он содержится в двух формах, выполняющих разные функции. Большая часть кальция содержится в костной ткани в виде фосфорно-кальциевых кристаллов, формирующих цементирующее вещество. Часть кальция находится в несвязанной ионизированной форме. Свободный кальций необходим для передачи нервных импульсов, мышечного сокращения, свертывания крови, реализации действия гормонов. Всасывание кальция в желудочно-кишечном тракте, выделение почками, а также его внутриклеточная концентрация строго регулируется. Суточная потребность человека в кальции составляет в среднем 800 мг. Главными источниками кальция в питании человека являются молоко и молочные продукты. Он хорошо усваивается также в составе солей: CaCO_3 , глюконат и лактат кальция. Содержание натрия и калия в тканях составляет, соответственно, 1,04 и 0,4 %. Большая часть натрия находится во внеклеточных жидкостях, а калия – внутри клеток. Они играют важную роль в регуляции осмотического давления и кислотно-основного равновесия, оказывая подщелачивающее действие. Их источниками являются преимущественно продукты растительного происхождения. Человек за сутки получает в среднем 12 г поваренной соли, в том числе ~ 8 г в составе пищевых продуктов и около 4 г за счет подсаливания. У 1/3 людей, имеющих генетическую предрасположенность к гипертонической болезни, избыточное потребление поваренной соли способствует повышению артериального давления, но в общей массе % таких людей невысок. Железо, на долю которого приходится в среднем 0,01 % от сухого вещества тканей, в составе гемоглобина участвует в транспорте кислорода эритроцитами и, входя в состав миоглобина – в депонировании кислорода в мышцах. Будучи составной частью цитохромов и некоторых ферментов, он принимает участие также в процессе тканевого дыхания и в окислительно-восстановительных реакциях. Суточная потребность человека в железе составляет в среднем 10 мг. Он лучше всего усваивается из продуктов животного происхождения, богатых гемовым железом. Хорошими источниками этого элемента являются также сульфат, глюконат и фумарат железа.

Элементы питания, необходимые для роста клеток в производстве биотехнологического продукта, можно подразделить на следующие группы:

- источники основных элементов;
- источники элементов, требуемых в меньших количествах;

- аминокислоты;
- витамины и гормоны;
- источники микроэлементов.

Основные источники питания, функции в биосинтезе и их обеспечение для клеток приведены в табл. 3.

При недостатке в субстрате каких-либо элементов в клетках могут включаться «запасные» механизмы биохимических процессов, направленные на выживаемость популяции.

Таблица 3

**Элементы питания клеток, применяемые
в биотехнологическом производстве**

Элемент	Источник их получения	Функция
Основные элементы питания		
H^+	Кислота или щелочь	Интенсивность роста. Состав биомассы и морфология
O_2	Воздух, вода	Акцептор электронов или водорода (дыхание), катаболизм
C	Глюкоза, мальтоза, лактоза	Энергия роста, функция поддержания жизнедеятельности и построения клеток
N_2	Неорганические и органические соединения, глутамат	Синтез белка, нуклеиновых кислот и полимеров клеточной стенки
Элементы питания, требуемые в меньшем количестве		
P	Неорганические фосфаты	Синтез белка, нуклеиновых кислот и полимеров клеточной стенки, катаболизм
K	Неорганические соединения	РНК, скорость роста
S	Сульфат, цистеин, метионин	Синтез аминокислот
Аминокислоты		
Глутаминовая кислота, L - аминокислоты, D - аминокислоты	Пептиды, гидролизаты, пептоны и т.п.	Фактор роста, синтез белка, клеточные стенки бактерий, ингибитор роста

Элемент	Источник их получения	Функция
Витамины и гормоны		
Жирорастворимые и водорастворимые витамины	Биотин, фолиевая кислота, пантотеновая кислота, тиамин, никотиновая кислота, никотинамид, пиридоксин, мезинозит, холин	Фактор роста
Микроэлементы		
Ca, Cu, Fe, Mg, Zn, Co, Mo	Соли, неорганические соединения	Интенсивность роста

Следует отметить, что используемые в биотехнологии субстраты и получаемые продукты чрезвычайно многообразны и предназначены для специфического применения. В табл. 4 приведены примеры субстратов, используемых в производстве фармацевтических биопрепаратов.

Таблица 4

Основные субстраты, используемые в производстве биопрепаратов, и получаемые продукты

Субстрат	Биологический объект	Конечный продукт
Синтетические и полусинтетические среды	Клетки микроорганизмов, животных и растений	Диагностические препараты
Гидролизаты растительных полимеров	Вирусы, бактериофаги	Лечебные, бактериальные и вирусные препараты
Продукты – предшественники биотрансформации	Компоненты клеток: протопласты мембран, хлоропласты, ферменты	Моноклональные антитела, сыворотки, глобулины, бактериофаги пр.

Окончание табл. 4

Субстрат	Биологический объект	Конечный продукт
Сыворотки. Химические вещества	Иммобилизованные клетки микроорганизмов, животных, их компоненты и внеклеточные продукты	Диагностические и лечебные препараты
Отходы (в том числе сельского хозяйства)	Продукты животноводства и растениеводства	Питательные среды, кормовые добавки, корма

ПОЛУЧЕНИЕ И ПРОМЫШЛЕННОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЕРМЕНТОВ

Все биохимические реакции, протекающие в живых организмах, катализируются ферментами, являющимися по своему строению белками. Их второе равнозначное название – энзимы, а отрасль науки, изучающая ферменты, называется энзимология. Следовательно, ферменты или энзимы – это специализированные белки, содержащиеся в клетках и внеклеточных жидкостях микроорганизмов, растений и животных. Они участвуют в реакциях расщеплении белков, липидов и полисахаридов в желудочно-кишечном тракте, в процессах внутриклеточного обмена веществ, в образовании и выведении из организма конечных продуктов обмена, в энергетических процессах, в обезвреживании токсических веществ, в синтезе клеточных белков и других биогенных соединений, необходимых для жизнедеятельности.

Ферментативные процессы применяются с доисторических времен во всех сферах деятельности человека. Виноделие и пивоварение, сыроварение и получение соевых продуктов, лечение нарушений пищеварения и выделка кож – наиболее характерные примеры использования ферментов. Источниками ферментов служат ткани растений, животных и культуры микроорганизмов. Так, трипсин, вырабатываемый в поджелудочной железе (*pancreas*) человека и животных, а также комплекс протеолитических ферментов поджелудочной железы (панкреатин) применяются при болезнях органов пищеварения и в переработке мясных продуктов. Сычужный фермент (ренин), содержащийся в слизистой оболочке желудка теленка, необходим для выработки сыра. Из растений получают ферменты, расщепляющие белки (протеазы), которые используются в мясоперерабатывающей промышленности. Применение ферментов в химических и пищевых технологиях обусловлено их специфичностью, а также высокой активностью при проведении реакций в мягких условиях и отсутствием побочных продуктов реакций.

Началом промышленной энзимологии считается 1890 г., когда было освоено производство амилазы из гриба *Aspergillus oryzae*, расщепляющей α -1,4-гликозидные связи в крахмале. Препарат под названием такадиастаза, содержащий, наряду с амилазой примесь протеазы, применялся в качестве средства, улучшающего пищеварение. Производство и использование ферментов в промышленных целях

началось в XX в. В 1913 г. в странах Западной Европы получило применение средство для замачивания белья, содержащее соду и протеолитические ферменты поджелудочной железы: трипсин и химотрипсин. Подлинным переворотом в прачечной технологии, в середине XX века, явилось использование протеазы, получаемой из *Bacillus subtilis*, для замачивания и стирки белья. Добавление к стиральному порошку 0,5 % ферментного препарата, содержащего всего 3 % активного фермента, позволяет решить проблему отстирывания белковых пятен, благодаря тому, что протеаза с высоким сродством концентрируется именно на белковых пятнах. Со второй половины XX в. производятся сотни тонн очищенных ферментов различного назначения. Около половины получаемых ферментных препаратов приходится на протеазы. Постоянно расширяются их ассортимент и сфера применения. Протеазы используются для умягчения мяса и увеличения выхода качественных мясных продуктов, створаживания молока и производства новых молочных продуктов, для предотвращения холодного помутнения пива и расщепления клейковины муки, а также для получения белковых гидролизатов и смесей аминокислот пищевого и медицинского назначения.

По строению активного центра протеазы делят на тиоловые, сериновые, аспартатные (кислые) и металлоферменты. Ряд тиоловых ферментов, применяемых для повышения физико-химических и качественных показателей мясных изделий, выделяют из растительного сырья. К ним относятся папаин из плодов дынного дерева, бромелаин из стеблей и листьев ананаса, а также фицин из растений рода *Ficus*. Перечисленные ферменты отличаются дороговизной, поскольку их продуцентами являются тропические растения. Вследствие этого в мясное производство все больше внедряются кислые протеазы, синтезируемые грибами, и похожие по свойствам на пепсин и ренин. Кислые протеазы применяются и в других отраслях пищевой промышленности. В частности, в хлебопекарном производстве – для расщепления клейковины муки с целью получения мягкого эластичного теста, идущего на изготовление бисквитов. В пивоварении они используются для предотвращения помутнения пива при его охлаждении. Кислые протеазы створаживают молоко, но они не могут заменить ренин при выработке сыра, так как вызывают глубокий гидролиз казеина; тем не менее, некоторые из них используются для створаживания молока и производства некоторых сортов сыра. В

странах Индокитая с их помощью гидролизуют белки сои и готовят соевые соусы. Кислые протеазы применяются также в кожевенной промышленности для удаления шерсти и выделки мягких, эластичных кож.

Сериновые протеазы, характеризующиеся низкой специфичностью и широким оптимумом действия, чаще всего используют в качестве действующего начала в стиральных порошках. Из них в наибольших количествах (более 500 т в год) вырабатывается субтилизин *Carlsberg*. Разработаны технологии получения сериновых протеаз из алкилофильных микроорганизмов, которые активны при рН 9–12 и температуре выше 50 °С. Отличительной особенностью сериновых протеаз является то, что они не гидролизуют белки до отдельных аминокислот. Ограничением для их применения в пивоварении является то, что они инактивируются сериновым ингибитором солода. Более высокой избирательностью действия по сравнению с сериновыми протеазами обладают металлоферменты, в активном центре которых обычно содержится цинк. Они используются для различных целей наряду с бромелаином и папаином, в том числе для гидролиза белков ячменя при осветлении пива.

Для выделки сыра необходима специфичная протеаза (ренин или сычужный фермент), расщепляющая одну пептидную связь в казеине. Традиционно этот фермент вырабатывается из слизистой оболочки желудка телят. В связи с труднодоступностью и дороговизной сырья в течение длительного времени шли поиски заменителя ренина. Однако, ни одна из известных протеаз, в том числе микробного происхождения не отвечала требованиям сыроделов. Только в последнее время удалось получить ренин методом генной инженерии, путем внедрения рекомбинантной ДНК, содержащей ген сычужного фермента телят, в *E. coli*.

Более 25 % производимых путём биотехнологии ферментов являются гликозидазами, катализирующими расщепление различных поли- и олигосахаридов. Они применяются для гидролиза (осахаривания) крахмала, расщепления сахарозы и лактозы с целью получения моносахаридов и безлактозных продуктов, а также на разных стадиях производства пива. Для полного расщепления крахмала применяется пуллулаза, катализирующая разрыв α -1,6-гликозидных связей амилопектина в точках ветвления. Ферменты бактерий, способные катализировать гидролиз β -гликозидных связей в клетчатке, применяются в

переработке сельскохозяйственной продукции, что увеличивает выход пищевых углеводов.

Около четверти от общего количества вырабатываемых промышленностью ферментов, представлены энзимами разных классов, которые применяются в разных отраслях промышленности, в лечении и диагностике заболеваний, а также в генноинженерных исследованиях. Производство глюкозооксидазы позволило создать простые автоматические анализаторы для определения глюкозы в крови, что имеет жизненно важное значение для больных сахарным диабетом. Другие окислительно-восстановительные ферменты (дегидрогеназы) также используются для аналитического определения различных веществ в биологических жидкостях и тканях. В химическом синтезе используется свойственная энзимам стереохимическая специфичность, то есть способность «узнавать» и катализировать превращение только одного (*L* или *D*) оптического изомера из рацемической смеси веществ. С помощью рацемаз разделяют оптические изомеры углеводов, аминокислот и других органических веществ, что чрезвычайно трудно осуществить физико-химическими методами.

Объем продаж ферментов на мировом рынке составляет сотни миллионов долларов в год, при этом их производство ежегодно возрастает на 10–15 %. Ферменты получают из сырья растительного и животного происхождения, однако наиболее дешевым и технологичным источником ферментов являются микроорганизмы. В них найдено около половины из более 3000 открытых к настоящему времени ферментов, при этом на долю ферментных белков приходится до 5 % от общего количества содержащихся в микроорганизмах белковых веществ.

Основные этапы получения ферментов из микроорганизмов следующие: культивирование продуцентов в питательной среде в течение 1–7 суток, выделение клеток путем центрифугирования и их отмывание, дезинтеграция (разрушение) клеток, центрифугирование цитозоля, выделение ферментов из надосадочной жидкости путем высаливания и гельфильтрации, очистка от низкомолекулярных примесей путем диализа, высушивание, контроль активности и фасовка. Поскольку получение очищенных ферментов довольно трудоемкий процесс, иногда в технологических процессах используют целые микробные клетки, содержащие необходимые ферменты.

Наиболее эффективным является применение иммобилизованных ферментов. Иммобилизация, то есть фиксация молекулы фермента на неподвижной матрице, значительно, в десятки тысяч раз, увеличивает стабильность фермента и срок его активности, что позволяет многократно или непрерывно в течение длительного времени использовать ферментный препарат. Иммобилизация осуществляется путем присоединения молекул ферментов к носителю за счет ионных, адсорбционных взаимодействий посредством ковалентной связи или включением их в гелевые, волокнистые структуры, в микрокапсулы, липосомы. Носителями могут служить различные полимерные материалы, силикагель, оксиды металлов, целлюлоза и другие полисахариды, а также стекло и керамика. Иммобилизуют не только очищенные ферменты, но и целые или частично разрушенные микробные клетки, что экономически более выгодно.

Технологический процесс с участием иммобилизованных ферментов проводят, как правило, в проточных реакторах (колоннах), в которых катализатор функционирует в виде неподвижной фазы или в перемешиваемом слое. С помощью иммобилизованных клеток *E. coli*, содержащих аспаргат-аммиак-лиазу, синтезируют аспарагиновую кислоту. Аналогичным методом получают глутаминовую кислоту, треонин, лизин и другие аминокислоты, органические кислоты и их оптические изомеры, а также лекарственные препараты, в частности, стероидные гормоны, антибиотики и другие биогенные вещества.

Ферменты сохраняют свои уникальные свойства (эффективность, специфичность действия) и вне клеток, поэтому ферментные препараты широко применяют в практических целях. Биологические катализаторы нетоксичны, работают в мягких условиях, в качестве субстратов используется доступное сырье, в том числе и отходы. В связи с этим применение ферментов в промышленности выгодно с экономической и экологической точек зрения.

По объему продуктов биотехнологических производств ферментные препараты занимают третье место после аминокислот и антибиотиков. Из нескольких тысяч известных в настоящее время ферментов наиболее широко в промышленности используются гидролитические ферменты: амилазы, протеазы, пектиназы и целлюлазы.

К этой группе препаратов относятся α - , β -амилазы и глюкоамилаза. Их используют для гидролиза крахмала и гликогена. В процессе гидролиза сначала образуются более простые полисахариды –

декстрины, а в последующем – глюкоза. При этом α -амилаза гидролизует без определенного порядка α -1,4-глюкозидные связи с образованием декстринов, мальтозы и глюкозы, β -амилаза отщепляет остатки β -мальтозы, а глюкоамилаза – остатки глюкозы от концевых частей молекул полисахарида.

Наиболее широкое применение эти препараты нашли в пищевой промышленности (производство патоки и глюкозы).

Протеолитические ферментные препараты

Эта группа ферментов относится к гидролазам. Они обладают такой важной особенностью, как высокоселективное воздействие на некоторые пептидные связи белковых молекул и пептидов. Например, пепсин способствует гидролизу пептидных связей с остатками ароматических аминокислот, трипсин катализирует гидролиз пептидной связи между остатками аминокислот аргинина и лизина. Ферментов, входящих в этот класс, очень много. Их классифицируют, в основном, по способности проявлять максимум ферментативной активности в определенной области рН раствора. Кислые протеазы проявляют максимум активности в интервале рН раствора от 1,5 до 3,0, нейтральные – 6,5 – 7,5, щелочные – от 8,0 и выше.

Протеазы нашли свое применение в различных отраслях народного хозяйства: в пищевой и легкой промышленности (предварительная обработка свежего сырого мяса и шкур, животных в кожевенной промышленности), в химической промышленности при получении синтетических моющих средств с добавками протеолитических ферментных препаратов, в здравоохранении при лечении некоторых воспалительных процессов, ожогов, тромбозов.

Пектолитические ферментные препараты

Пектолитические ферментные препараты используются для расщепления пектиновых веществ, содержащихся в стеблях растений (льна), в различных корнеплодах, фруктах. К ним относятся пектин, пектиновые кислоты и протопектин. *Пектиновая кислота* – это полимер галактурононой кислоты. *Пектин* – это полностью или частично этерифицированная метиловым спиртом пектиновая кислота. *Протопектин* представляет собой комплекс с целлюлозой и белко-

выми веществами. Строение комплекса пока полностью не установлено.

Пектиновые вещества имеют молекулярную массу от 20 до 200 кДа.

Пектиназы делятся на две группы – гидролазы и трансэлиминазы. Первые катализируют процесс отщепления метоксильных групп (пектинэстераза) или обеспечивают разрыв α -1,4-гликозидных связей (полигалактуроназы). Вторые осуществляют негидролитическое расщепление пектиновых веществ с образованием двойных связей (пектинтрансэлиминазы).

Препараты нашли свое применение в легкой промышленности при вымачивании льна и в пищевой промышленности для осветления вин и консервирования фруктовых соков.

Целлюлолитические ферментные препараты

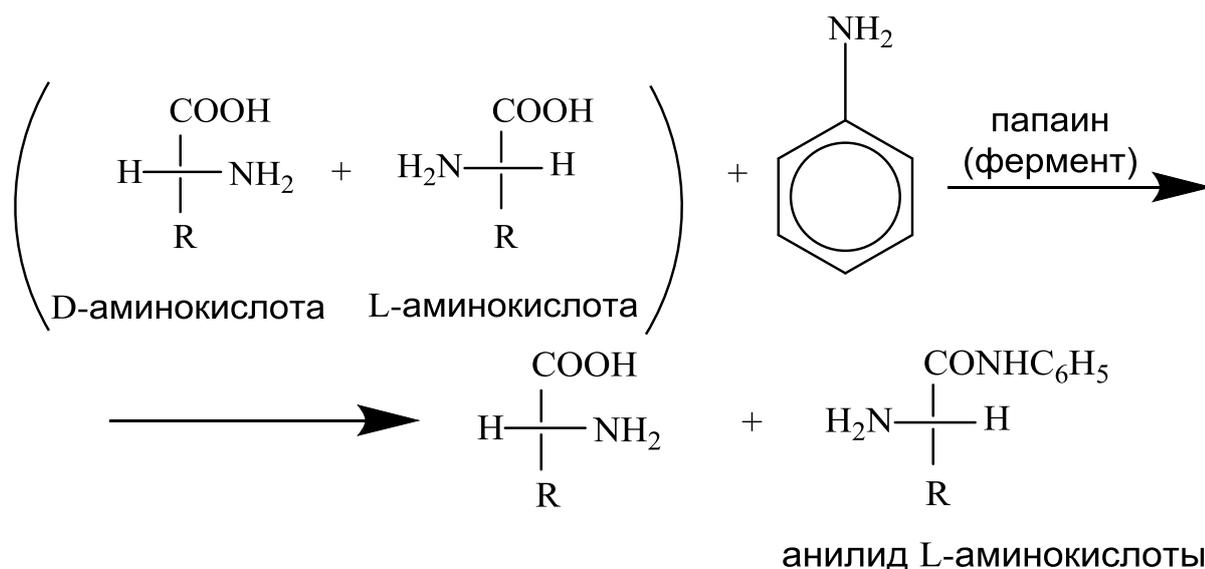
Целлюлолитические ферментные препараты используются при обработке целлюлозы. Сама целлюлоза или клетчатка представляет собой полисахарид общей формулы $(C_6H_{10}O_5)_n$ и содержится в клеточных стенках растений. При степени полимеризации $n = 10$ образует кристаллическую решетку. Нитевидные молекулы, взаимодействуя между собой, образуют прочные структуры – фибриллы. В объеме таких фибрилл существуют упорядоченные кристаллические участки, где молекулы расположены параллельно друг другу и связаны водородными связями. Существуют также аморфные участки с неупорядоченной структурой.

Микроорганизмы способны синтезировать целый комплекс целлюлолитических ферментов, которые последовательно катализируют процесс гидролиза целлюлозы до глюкозы. В ферментном комплексе различают три группы ферментных препаратов: *Ci*-фактор, *Sx*-фермент и целлюбиазу.

Целлюлолитические ферментные препараты нашли применение в целлюлозно-бумажной промышленности, медицинской промышленности (получении лекарственных веществ – стероидов из растений), в пищевой промышленности (при производстве растительных масел) и в сельском хозяйстве (в качестве добавок к кормам жвачных животных).

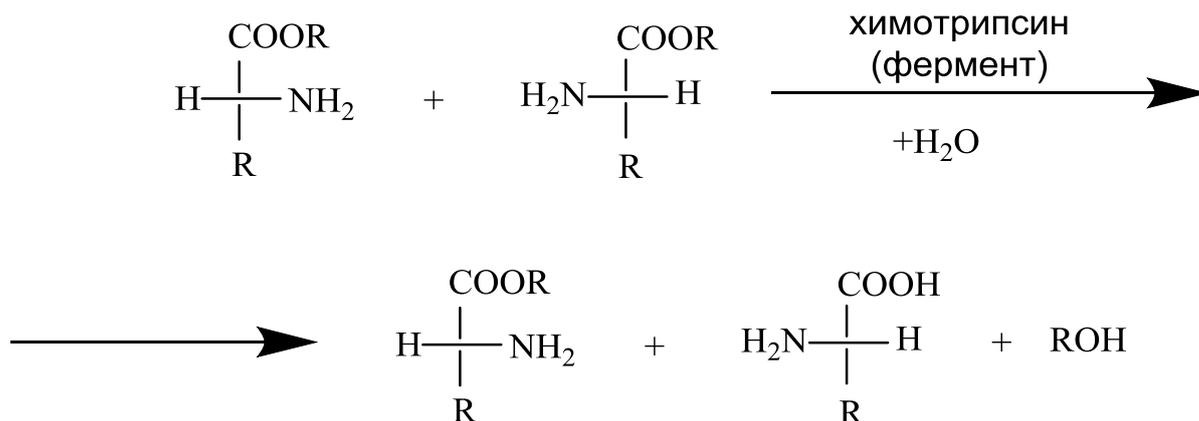
На коммерческий уровень поставлено ферментативное разделение рацемических смесей аминокислот и эфиров терпенов. Такие смеси образуются при химическом синтезе, и разделение их по оптическим свойствам составляющих имеет важное практическое значение. Известно, что для этого можно использовать традиционные физико-химические и химические методы (хроматография; механическое разделение, избирательное взаимодействие энантиомеров с другими оптически активными веществами), но гораздо более эффективными и удобными оказываются процессы, основанные на стереоспецифичности ферментов. Рассмотрим некоторые из используемых приемов.

1. Избирательное ацилирование аминов *L*-аминокислотами под действием ферментов папаина, бромелаина или фицина по приведённой ниже схеме:



Образующийся анилид *L*-аминокислоты нерастворим в воде и может быть легко отделен от *D*-изомера, а затем гидролизован.

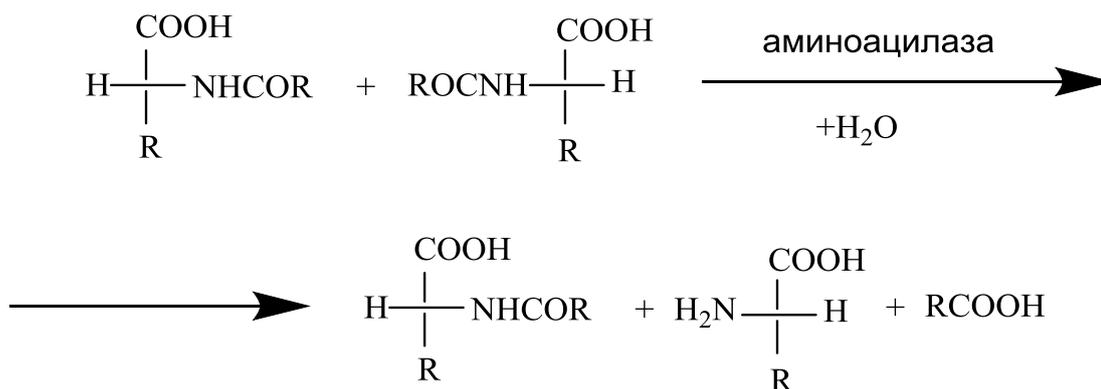
2. Асимметричный гидролиз. В этом случае осуществляется стереоспецифический гидролиз производных аминокислот, в результате которого образуется только один энантиомер. Эфиры *L*-аминокислот гидролизуют с помощью протеолитических ферментов, например химотрипсина:



Затем нужный продукт и не вступающие в реакцию *D*-эфиры разделяют по их растворимости в воде.

3. Использование амидаз. Эти ферменты из почек и поджелудочной железы млекопитающих или из микроорганизмов стереоспецифически гидролизуют амиды *L*-аминокислот. Образующуюся *L*-кислоту и непрореагировавший *D*-изомер затем разделяют методом дифференциальной растворимости. Амиды менее склонны к самопроизвольному гидролизу, чем эфиры, поэтому получают более чистые препараты аминокислот.

4. Стереоспецифический гидролиз *N*-ацил *L*-аминокислот под действием аминоацилазы или карбоксипепсидазы, приводит к образованию *L*-аминокислот по схеме:



Принципы избирательного гидролиза аксиально или экваториально расположенной простой эфирной группы под действием ферментов лежит также в основе разделения рацемических смесей эфиров и терпенов.

Весьма перспективным представляется использование ферментов в качестве датчиков вредных и ядовитых веществ. Так, в качестве индикатора на фосфорорганические отравляющие вещества нервно-паралитического действия применяется холинэстераза. Ее так же можно использовать и для определения фосфорорганических пестицидов. Степень ингибирования этого фермента в присутствии ОВ или пестицидов оценивают электрохимическими или спектрофотометрическими методами.

Подобно холинэстеразе карбоангидраза проявляет высокую чувствительность к хлорпроизводным алифатических углеводов, а гексокиназа – к аналогичным производным ароматических углеводов.

Всё большее развитие получают технологические процессы с участием сложных ферментных систем, включающих коферменты. Так, созданы ферментные мембранные реакторы, катализирующие непрерывные процессы с регенерацией НАДН (восстановительное аминирование кетокислот, восстановление α - кетокислот в α - гидроксикислоты). Разработаны системы разделения рацематов посредством стереоспецифического активного транспорта. Например, мембрана, содержащая гексокиназу и фосфатазу, функционирует как насос, избирательно прокачивающий лишь *D*-глюкозу. Применение сопряженных ферментативных реакций с участием алкогольоксидазы и каталазы дрожжей *Hansenula polymorpha* и формальдегиддисмутазы бактерии *Pseudomonas putida* позволило осуществить окисление метанола в муравьиную кислоту с выходом 88 – 94%. В промышленности большое будущее имеют ферменты, способные катализировать химические реакции в органической фазе (“каталитические антитела”), в частности липазы. Существенно, что каталитическая активность панкреатической липазы свиньи сохраняется при концентрации воды в реакционной среде, составляющей всего 0,015 %, и при температуре 100 °С. Препараты липазы используют для синтеза оптически чистых сложных эфиров и феромонов, применяющихся в парфюмерии и медицине.

Для деградации и модификации антропогенных органических соединений, поступающих в окружающую среду, используют ферменты разных классов и в том числе лакказу, лигниназу, тирозиназу, монооксигеназу, диоксигеназу и др. Для очистки сточных вод предложена новая перспективная технология, основанная на использова-

нии реакции пластеинообразования, открытой А. Я. Данилевским в 1886 г. Сущность работ А. Я. Данилевского состоит в экспериментальном доказательстве обращения протеолиза и возможности синтеза белковоподобных веществ (пластеинов) под действием протеолитических ферментов. Сточные воды содержат аминокислоты и пептиды, концентрация которых возрастает в результате гидролиза белковых компонентов отходов под воздействием пептидогидролаз микроорганизмов. Данная технология, активно внедряющаяся во Франции, нацелена на производство в промышленных масштабах кормовых белков из аминокислот и пептидов сточных вод.

Развитие клеточной и генной инженерии было бы невозможно, если бы в распоряжении исследователей не было целого набора специфических ферментов (рестриктаз, лигаз, синтаз, ферментов избирательно разрушающих клеточную оболочку и др.). Так, в настоящее время в продаже имеется более 300 различных рестриктаз.

Ферменты широко используют в медицине, например в заместительной терапии в составе лечебных препаратов. Пероральное введение фенилаланин-аммиак-лиазы снижает уровень фенилаланина в крови при фенилкетонурии. Протеолитические ферменты, амилазу и липазу применяют при заболеваниях желудочно-кишечного тракта и печени. В последние годы накопились данные об эффективности применения протеиназ в энзимотерапии злокачественных новообразований. Это объясняется большей проницаемостью мембран раковых клеток для гидролитических ферментов в сравнении с нормальными клетками, благодаря чему опухолевые клетки быстро лизируются при введении смеси протеиназ (препарат «папайотин»). Протеолитические ферменты – плазмин и активирующие его стрептокиназу и урокиназу используют для растворения тромбов в кровеносных сосудах и разжижении гноя; коллагеназу – для рассасывания рубцовых образований; эластазу – для задержки развития атеросклероза; лизоцим – для лечения конъюнктивитов; дезоксирибонуклеазу из стрептококка (стрептодорназа) – для лечения заболеваний верхних дыхательных путей и роговицы глаза.

L-аспарагиназу продуцируют *E. coli* и *Erwinia carotovora*. Фермент используют при химиотерапии некоторых форм лейкемии. L-аспарагиназа отщепляет одну аминокислотную группу от аспарагина, превращая его в аспарагиновую кислоту. Избирательность действия фермента определяется потребностью некоторых форм опухолевых кле-

ток в аспарагине, тогда как нормальные клетки в аспарагине не нуждаются.

Нейраминидазу получают при культивировании *Vibrio cholera*. Фермент отщепляет остатки *N*-ацетилнейраминовой кислоты, входящей в мембрану некоторых опухолевых клеток, повышая таким образом их антигенную активность. Может быть использован при лечении некоторых форм лейкемии.

β -лактамазы, инактивирующие пенициллины и цефалоспорины, используются при определении стерильности этих антибиотиков или при микробиологическом анализе клинического материала от больных, получающих эти антибиотики. В терапевтических целях их используют в случае тяжелой аллергической реакции на β -лактамные антибиотики. Фермент вводят внутримышечно или внутривенно совместно с другими препаратами (адреналин, антигистаминные средства).

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА

Цель изучения дисциплины «Биоконверсия пищевых систем» состоит в том, чтобы сформировать у студентов современные представления о биоконверсии как об одном из основных разделов науки биотехнологии, научить студентов общим принципам применения пищевой биотехнологии и методам биотехнологических исследований.

Знание основ использования биотехнологических процессов при переработке пищевого сырья и производстве продуктов питания позволяет:

- прогнозировать характер изменений сырья и пищевых систем в процессе биотрансформации;
- влиять на показатели качества и биологической безопасности сырья, пищевых добавок, готовых пищевых продуктов;
- определять причины порчи продуктов и возникновения дефектов, приводящих к количественными и качественным потерям;
- оптимизировать и интенсифицировать технологические процессы, улучшать потребительские свойства пищевых продуктов и продлить сроки хранения;
- обеспечивать комплекс мероприятий, направленных на соблюдение экологической безопасности предприятий пищевой и перерабатывающей промышленности.

В результате освоения учебной дисциплины студент должен:

знать:

- структуру научного направления «биотехнология», его раздела «биоконверсия» среди других наук, прикладное значение биоконверсии;
- сущность биологических процессов, используемых в биотехнологии и в биоконверсии;
- классификацию и основные свойства ферментов, используемых для конверсии пищевого сырья; основные биохимические процессы, лежащие в основе преобразования и получения химических веществ;
- основы биотехнологического микробного производства белков и области их применения; сырьевые источники и процессы биоконверсии растительного сырья; биотехнологические способы получения энергоносителей;
- основы экологической биотехнологии;

– виды организации производства того или иного продукта;

уметь:

– составлять рациональные схемы исследования объектов биотехнологии на тканевом, клеточном и молекулярном уровнях;

– выбирать объекты и методы биотехнологического производства для получения низкомолекулярных веществ и биополимеров;

владеть:

– методами и навыками описания, анализа и оценки различного вида процессов биоконверсии, применяемых в профессиональной деятельности, на основе использования фундаментальных представлений химико-биологических наук, а также навыками использования программных средств и информационных технологий.

Содержание дисциплины

Строение и общие свойства ферментов

Химическая природа ферментов. Молекулярная структура ферментов. Активный и аллостерический центры. Контактный и каталитический участки активного центра. Функциональные отличия ферментов от низкомолекулярных катализаторов. Проферменты. Апоферменты и простетические группы сложных ферментов. Коферменты, кофакторы и их роль в каталитическом процессе. Мультимолекулярные ферментные комплексы. Изоферменты и их биологическое значение.

Синтез ферментов и его регуляция. Индукция и репрессия синтеза. Посттрансляционная модификация ферментов Роль ограниченного протеолиза в активации ферментов. Получение ферментов в очищенном виде.

Методы фракционирования и выделения ферментов. Методы исследования структуры ферментов и строения активного центра. Молекулярные аспекты специфичности ферментов. Теории сродства фермента и субстрата. Природа физико-химических взаимодействий молекул субстрата с активными центрами ферментов.

Механизм действия ферментов. Кинетика ферментативного катализа

Теории катализа. Отличительные черты ферментативного катализа. Эффективность действия ферментов. Образование фермент-субстратных комплексов. Зависимость скорости реакции от концентрации субстрата. Теория Михаэлиса – Ментен. Кинетика ферментативных реакций. Константы скоростей образования и распада фермент-субстратных комплексов (малые константы). Интегральные константы ферментативной реакции: максимальная скорость реакции, константа сродства и константа Михаэлиса.

Уравнения ферментативной реакции Михаэлиса – Ментен и Холдейна – Бриггса. Численное значение константы Михаэлиса и ее практическое значение. Определение константы Михаэлиса и максимальной скорости реакции по методу Лайнуивера – Берка.

Влияние температуры и рН среды на активность ферментов

Энергия химической реакции. Уравнение Аррениуса. Энергетический барьер реакции и энергия активации неферментативных и ферментативных реакций. График зависимости активности фермента от температуры раствора. Анализ кривой. Температурный оптимум ферментативной реакции. Термостабильные и термолабильные ферменты. Активность ферментов при низких температурах. Влияние кристаллизации воды на активность ферментов. Активность ферментов в замороженных средах.

Зависимость скорости реакции от значения рН раствора. Влияние рН на заряд ионогенных групп в молекулах белка. Изменения структуры фермента и реакционной способности активного центра при разных значениях рН. Оптимальное значение рН для ферментов и его биологическое значение. Энзимозлектрофорез.

Регуляция активности ферментов

Активность нативных ферментов. Роль третичной и четвертичной структур молекулы фермента. Специфические факторы, повышающие активность ферментов. Классификация, механизмы действия. Роль анионов и катионов металлов в активации ферментов. Механизм активирующего действия восстановленного глутатиона на тиоловые ферменты.

Аллостерическая регуляция активности фермента, действие промежуточных и конечных продуктов реакции. Регуляция скорости многоэтапных биохимических процессов путем обратной отрицательной связи.

Ингибиторы ферментов: классификация, механизмы действия. Обратимые и необратимые ингибиторы. Константы ингибирования. Конкурентное и аллостерическое ингибирование ферментов. Белковые ингибиторы ферментов. Ковалентная модификация структуры и активности ферментов.

Классификация, номенклатура и методы определения активности ферментов

Принципы классификации ферментов. Шифр фермента. Характеристика класса оксидоредуктаз. Подклассы, наиболее важные представители и энергетическое значение катализируемых оксидоредуктазами реакций. Механизмы реакций ферментативного окисления и восстановления субстратов.

Трансферазы. Важнейшие представители этого класса и механизмы их действия. Биологическое значение трансферазных реакций. Коферменты трансфераз.

Характеристика класса гидролаз. Роль реакций гидролиза в процессах катаболизма, протекающих в живых тканях и в пищевом сырье. Особенности строения и механизмы действия гидролаз.

Лиазы. Особенности каталитического действия. Важнейшие представители. Изомеразы. Роль реакций изомерного превращения в биологических процессах. Механизм действия изомераз, примеры реакций. Синтетазы. Механизмы действия. Зависимость от источников энергии. Значение в процессах анаболизма. Отдельные представители.

Принципы и способы количественного определения активности ферментов. Достоинства и недостатки титрометрических методов. Сравнительная оценка спектрофотометрических методов. Принципы спектрофотометрии, приборы, автоматический анализ. Единицы ферментативной активности.

Применение ферментных препаратов в пищевой промышленности

Биоконверсия пищевого сырья с использованием ферментов

Определение биоконверсии и её содержание как отрасли наук и производства. Общая характеристика и классификация ферментов. Ферментная переработка растительного сырья. Ферменты, трансформирующие органическое сырье. Гидролитические процессы, негидролитические реакции. Препараты гидролаз: амилазы, протеазы, пектиназы, целлюлазы. Процесс и скорость гидролиза. Эндо- и экзофер-

менты. Выбор ферментов для гидролиза сырья. Организмы, используемые в биотехнологии, их строение, химический состав.

Основным потребителем ферментов в ближайшем будущем остается пищевая промышленность. Главное место среди этих энзимов занимают глюкоизомераза и глюкоамилаза, применяющиеся для приготовления обогащенных фруктозой кукурузных сиропов и составляющие около 50 % рынка пищевых ферментных препаратов.

Ферментные препараты, используемые в кондитерской промышленности

Комплексные препараты, содержащие протеазы и α -амилазу. Использование протеолитических ферментов. Применение инвертазы и липазы.

Кондитерские изделия (с пищевыми растительными волокнами; на основе фруктового и овощного сырья; с белковыми обогатителями).

Производство алкогольных напитков с помощью биоконверсии

Производство этилового спирта. Получение различного вида алкогольных напитков. Применение ферментных препаратов в спиртовой промышленности. Производство пива. Сырье, технология. Ферментные препараты, используемые в пивоварении.

Гидролиз крахмала. Препараты, используемые в этом процессе (амилосубтилин, амилоризин, солод). Гидролиз целлюлозы. Препараты, используемые в этом процессе (целлофторин ГЗх, целлобрагин ГЗх, целлюлаза-100).

Вина: виноградные и плодовые

Производство виноградных вин. Натуральные, специальные, ароматизированные вина и вина, газированные диоксидом углерода. Классификация плодовых вин.

Производство безалкогольных напитков

Классификация соков. Технология производства соков. Химический состав чая. Процесс производства чая (технология, переработка вторичного чайного сырья).

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ К САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЕ СТУДЕНТОВ

Изучение дисциплины «Биоконверсия пищевых систем» предусматривает самостоятельную работу с использованием рекомендованной учебной литературы, а также аудиторные занятия на кафедре химии и молекулярной биологии.

Программа данной дисциплины раскрывает принципы и особенности биотехнологической переработки пищевого сырья с использованием ферментов, а также актуальность применения ферментных препаратов в различных отраслях пищевой промышленности: производство кондитерских изделий, спирта этилового, алкогольных и безалкогольных напитков.

В программе рассматриваются характеристика и свойства ферментов, участвующих в трансформации органического сырья, которые можно условно разделить на следующие группы:

1 – собственные ферменты сырья (гидролитические и окислительно-восстановительные);

2 – ферменты сопутствующей микрофлоры сырья;

3 – ферментные системы культурных штаммов микроорганизмов-возбудителей брожения, продуцентов органических кислот, аминокислот, витаминов, ферментов, пищевого белка и пр.;

4 – ферментные препараты растительного, микробного и животного происхождения.

Большинство промышленно важных процессов биоконверсии осуществляется путем многоступенчатого превращения субстрата в конечный продукт с участием нескольких ферментов или ферментных систем. В программе особое место уделяется раскрытию механизмов ферментативных процессов, происходящих в живых системах, которые при биотехнологическом производстве являются энергетически более выгодными, чем продукты химического синтеза. Технологическое преимущество биоконверсии по сравнению с процессами химических превращений веществ состоит в том, что необходимые катализаторы синтезируются культурой микроорганизма, и конверсия может быть осуществлена в одну технологическую стадию. Для понимания процессов метаболизма веществ, протекающих в живой клетке, студенты должны знать строение и химический состав микроорганизмов, клеток растений.

Классическими примерами биоконверсии служат процессы получения продуктов брожения: спиртов, органических кислот (уксусной, молочной, лимонной, глюконовой) из углеводных субстратов, ферментативное превращение глюкозы во фруктозу. Ферментными методами получают различные виды сахаристых продуктов, используя в качестве сырья крахмал, зерно злаков, инулинсодержащее сырье, молочную сыворотку. Ведущее место занимают продукты ферментации крахмала – глюкозно-фруктозный сироп и различные виды патоки. С начала 70-х годов мировая потребность в сахаре, используемом при производстве кондитерских изделий, в значительной мере удовлетворяется за счет сахаристых продуктов из крахмала, производство которых в развитых странах существенно превышает производство сахарозы.

Производство спирта этилового из пищевого сырья основано на конверсии сбраживаемых органических соединений в этанол с помощью культур дрожжей. В рамках данной программы студентам предоставляется возможность изучить пути и способы решения задачи получения спирта из сырья и повышения рентабельности его производства. Решение задачи состоит из следующих этапов: обеспечение путем биоконверсии полного гидролиза крахмала и некрахмальных полисахаридов в сбраживаемые сахара; обеспечение применяемых дрожжей питательными элементами, необходимыми для их быстрого размножения и синтеза гидролитических ферментов и ферментов цикла брожения.

Ферменты играют ключевую роль на всех этапах пивоварения. Классическая технология пива основана на использовании ферментов ячменного солода и дрожжей-сахаромицетов. В программе предусмотрено краткое изучение основных этапов процесса приготовления пива: получение пивного сусла, главное брожение и дображивание пива. Студенты знакомятся с ферментативными способами стабилизации пива от помутнений в ходе его приготовления и хранения.

Технология виноделия основана на регуляции процессов, катализируемых ферментами сырья, его микрофлоры, культурных штаммов дрожжей и бактерий – возбудителей брожения. В программе рассматриваются вопросы использования при производстве вина также и промышленных препаратов гидролитических ферментов различной специфичности. Обработку ферментными препаратами применяют на стадиях получения сока, подготовки сусла к брожению, стабили-

зации вина. Студенты должны знать, что способ применения ферментных препаратов определяется качеством сырья и видом вырабатываемой продукции.

Ферментация растительного материала применяется при производстве компонентов безалкогольных напитков, витаминных экстрактов, пищевых красителей. Ферментация соков снижает содержание коллоидов в растворе и повышает скорость их последующей фильтрации.

Ферментные препараты применяются при производстве чая и чайных экстрактов. Так, обработка чайного листа на стадии скручивания-ферментации раствором препарата Целлолигнорина П10х увеличивает на 2,0–3,3 % в чайном листе количество экстрактивных веществ (фенолов, аминокислот, сахаров). Окислительные превращения указанных веществ формируют аромат и цвет настоя чая.

Таким образом, к настоящему времени ферментные препараты стали мощным средством трансформации практически любого вида биологического сырья, формирования и контроля качества продуктов. Применение ферментных препаратов позволило существенно повысить глубину переработки пищевого сырья и кормов, улучшить органолептические свойства и создать новые виды пищевых продуктов, повысить усвояемость кормов. При переработке органического сырья необходимо держать в поле зрения все возможные источники ферментативной активности и правильно оценивать их влияние на выход и качество продуктов переработки.

С целью успешного усвоения материала и подготовки к итоговому зачету рекомендуется выполнить нижеследующие тесты для самостоятельной работы. Правильность их выполнения можно проверить по таблице в конце методических указаний.

ТЕСТЫ ДЛЯ КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ СТУДЕНТОВ

1. Биоконверсия – это:

а) превращение одних органических соединений в другие вследствие воздействия химических неорганических веществ на исходное сырье;

б) превращение одних органических соединений в другие вследствие воздействия ферментных систем микроорганизмов;

в) превращение одних органических соединений в другие вследствие воздействия гормональных препаратов животного происхождения;

г) превращение одних органических соединений в другие вследствие воздействия физических факторов окружающей среды.

2. Основные продукты, получаемые путем микробиологической биоконверсии растительного сырья:

а) витаминные препараты;

б) каучук;

в) протеинизированные корма;

г) липосомальные фракции.

3. Основными источниками сырья для биоконверсии являются:

а) отходы металлургической промышленности;

б) отходы авиационного приборостроения;

в) сырье и отходы пищевой промышленности;

г) отходы химической промышленности.

4. Основными вторичными источниками сырья для биоконверсии являются отходы:

а) металлургической промышленности;

б) авиационного приборостроения;

в) сельскохозяйственного производства;

г) химической промышленности.

5. Ферменты – это катализаторы:

а) белковой природы;

б) углеводной природы;

в) липидной природы;

г) неорганической природы.

- 6.** Ферменты – это химические вещества, которые:
- а) не подвержены воздействию рН среды;
 - б) не влияют на скорость протекания биохимических реакций;
 - в) не подвержены влиянию температуры;
 - г) ускоряют протекание биохимических реакций.

- 7.** Денатурацию фермента вызывает:
- а) наличие в реакционной среде витамина К;
 - б) нейтральные значения рН среды;
 - в) высокая температура реакционной среды;
 - г) наличие в реакционной среде дипептидов.

- 8.** Денатурацию фермента вызывает:
- а) наличие в реакционной среде витамина К;
 - б) нейтральные значения рН среды;
 - в) наличие органических растворителей в реакционной среде;
 - г) наличие в реакционной среде дипептидов.

- 9.** Гидролазы – это класс ферментов, которые катализируют:
- а) реакции расщепления полимеров без участия воды;
 - б) окислительно-восстановительные реакции;
 - в) реакции расщепления полимеров с участием воды;
 - г) реакции биосинтеза органических веществ.

10. К классу ферментов гидролазы относится следующее органическое вещество:

- а) глюкоза;
- б) глицерин;
- в) α -амилаза;
- г) бензойная кислота.

- 11.** Фермент α -амилаза ускоряет реакции гидролиза:
- а) фосфолипидов;
 - б) крахмала;
 - в) миозина;
 - г) нуклеиновой кислоты.

12. Целлюлаза ускоряет реакции гидролиза:

- а) фосфолипидов;
- б) белка миозина;
- в) целлюлозы;
- г) нуклеиновой кислоты.

13. Фермент протеаза ускоряет реакции гидролиза:

- а) фосфолипидов;
- б) крахмала;
- в) нуклеиновой кислоты;
- г) белка и пептидов.

14. Фермент пектиназа ускоряет реакции гидролиза:

- а) фосфолипидов;
- б) белка миозина;
- в) структурного компонента клеточной стенки растений пектина;
- г) нуклеиновой кислоты.

15. Процессы созревания пшеничной муки характеризуются:

- а) увеличением кислотности за счет разложения жира и накопления продуктов гидролиза белков;
- б) потемнением цвета в результате окисления каротиноидов;
- в) отсутствием изменений в показаниях влажности муки;
- г) уменьшением структурно-механических свойств клейковины.

16. В производстве хлебобулочных изделий применяют следующие микроорганизмы:

- а) плесневые грибы;
- б) сине-зеленые водоросли;
- в) дрожжи;
- г) бактериофаги.

17. В производстве хлебобулочных изделий применяют следующие микроорганизмы:

- а) плесневые грибы;
- б) сине-зеленые водоросли;
- в) молочнокислые бактерии;
- г) бактериофаги.

18. Созревание теста включает в себя протекание следующих процессов:

- а) спиртовое брожение;
- б) пропионовокислородное брожение;
- в) гниение;
- г) фотосинтез.

19. Созревание теста включает в себя протекание следующих процессов:

- а) пропионовокислородное брожение;
- б) гниение;
- в) фотосинтез;
- г) молочнокислородное брожение.

20. Процесс брожения теста (хлеба) прекращается при температуре выпечки:

- а) + 25 °С;
- б) + 40 °С;
- в) + 50 °С;
- г) + 80 °С.

21. Процесс жизнедеятельности кислотообразующих бактерий приостанавливается при температуре выпечки:

- а) + 25 °С;
- б) + 40 °С;
- в) + 60 °С;
- г) + 80 °С.

22. Химический процесс, происходящий при выпечке хлеба:

- а) денатурация растительных белков;
- б) синтез углеводов;
- в) синтез АТФ;
- г) распад гликогена.

23. Коллоидный процесс, происходящий при выпечке хлеба:

- а) синтез углеводов;
- б) синтез АТФ;
- в) распад гликогена;

г) клейстеризация крахмала.

24. Основные признаки картофельной болезни пшеничного хлеба:

- а) слизистый мякиш;
- б) сладкий запах;
- в) зачерствение;
- г) отсутствие паутинообразных нитей.

25. Возбудителем картофельной болезни пшеничного хлеба является:

- а) вирус табачной мозаики;
- б) бактерия картофельная палочка;
- в) хламидия;
- г) дрожжи.

26. Метод предотвращения плесневения хлеба:

- а) внесение в тесто сорбиновой кислоты и ее солей в качестве химических консервантов;
- б) повышение значений влажности окружающей среды на складе хранения хлеба;
- в) внесение в тесто органических растворителей;
- г) просеивание муки.

27. Для производства спирта этилового пищевого в качестве исходного сырья применяется:

- а) отход деревообрабатывающей промышленности;
- б) малиновый сироп;
- в) зерно злаковых культур;
- г) отход нефтедобывающей промышленности.

28. Амилолитический ферментный комплекс применяется в процессе производства спирта этилового для:

- а) охлаждения исходного сырья;
- б) гидролиза крахмала и некрахмальных полисахаридов, содержащихся в исходном сырье, в сбраживаемые сахара;
- в) синтеза белков;
- г) расщепления жирных кислот.

29. Амилолитический ферментный комплекс применяется в процессе производства спирта этилового на следующей технологической стадии обработки исходного сырья:

- а) хранение сырья;
- б) закупка сырья;
- в) разваривание и осахаривание сырья;
- г) сбраживание сырья.

30. Для биотехнологического производства гидролитических ферментов амилаз, применяемых в спиртовой промышленности, используют следующие живые организмы:

- а) вирусы;
- б) сине-зеленые водоросли;
- в) бактерии;
- г) птицы.

31. Для биотехнологического производства гидролитических ферментов амилаз, применяемых в спиртовой промышленности, используются следующие живые организмы:

- а) вирусы;
- б) сине-зеленые водоросли;
- в) лягушки;
- г) плесневые грибы.

32. Дрожжи применяются в процессе производства спирта этилового на следующей технологической стадии:

- а) хранение сырья;
- б) закупка сырья;
- в) разваривание и осахаривание сырья;
- г) сбраживание осахарившегося сусла.

33. Для получения пивного сусла из смешанного сырья применяют преимущественно ферменты класса:

- а) гидролаз (амилазы, протеазы);
- б) изомераз;
- в) лиаз;
- г) трансфераз.

34. Для сбраживания пивного сусла применяются следующие микроорганизмы:

- а) бактериофаги;
- б) простейшие;
- в) дрожжи;
- г) бактерии.

35. Зерновые отходы спиртового и пивоваренного производства используют для:

- а) приготовления лечебных препаратов;
- б) производства биогаза метана;
- в) очистки сточных вод;
- г) на корм скоту.

36. Остаточные дрожжи, являющиеся отходами спиртового и пивоваренного производства, используют для:

- а) приготовления ферментных препаратов;
- б) производства биогаза метана;
- в) очистки сточных вод;
- г) орошения пастбищ.

37. Диоксид углерода, выделяемый в ходе производства спиртового этилового и пива, используют для:

- а) приготовления лечебных препаратов;
- б) приготовления сухого льда;
- в) очистки сточных вод;
- г) на удобрения.

38. Для сбраживания плодово-ягодного сусла применяются следующие микроорганизмы:

- а) бактериофаги;
- б) простейшие;
- в) бактерии;
- г) дрожжи.

39. Обработка плодово-ягодного сока *пектолитическим* ферментным препаратом Винозим используется для:

- а) понижения интенсивности окраски;

- б) увеличения количества полисахаридов;
- в) осветления сусла;
- г) понижения выхода экстрактивных веществ.

40. Обработка вина *гидролитическим* ферментным препаратом Винозим используется для:

- а) понижения интенсивности окраски;
- б) увеличения количества полисахаридов;
- в) осветления сусла;
- г) понижения выхода экстрактивных веществ.

41. Обработка вина гидролитическим ферментным препаратом кислая протеаза используется для:

- а) понижения интенсивности окраски;
- б) увеличения количества полисахаридов;
- в) осветления сусла;
- г) стабилизации вина от коллоидных помутнений.

42. Ферментацию плодово-ягодных морсов гидролитическими ферментами проводят с целью:

- а) снижения количества коллоидов в растворе;
- б) снижения количества витамина С в растворе;
- в) увеличения вязкости раствора;
- г) защиты растворов от воздействия УФ-лучей.

43. Ферментация ягод ании Целлюлазой-100 при производстве антоцианового красителя применяется для:

- а) понижения концентрации витамина С;
- б) повышения выхода антоцианов с последующей водно-спиртовой экстракцией;
- в) снижения скорости экстракции антоцианов;
- г) защиты растительных клеток от воздействия радиоактивного облучения.

44. Обработка чайного листа гидролитическим ферментным препаратом Целлолигнорин П10х применяется для:

- а) защиты растительных клеток от воздействия УФ-лучей;
- б) снижения количества аминокислот;

- в) увеличения количества ненасыщенных жирных кислот;
- г) увеличения количества экстрактивных веществ.

45. Обработка чайного листа ферментным препаратом феноксидазой (класс оксидоредуктазы) применяется для:

- а) защиты растительных клеток от воздействия УФ-лучей;
- б) снижения количества аминокислот;
- в) сокращения времени ферментации чайного листа;
- г) увеличения количества экстрактивных веществ.

46. Сатурация напитков – это технологический процесс:

- а) укупоривания готовой продукции;
- б) насыщения напитков диоксидом углерода;
- в) дозирования купажного сиропа в бутылки;
- г) перемешивания содержимого бутылки.

47. Дрожжевые и гущевые осадки, являющиеся отходами виноделия и сокового производства, используют для:

- а) приготовления кормовой муки и гранулированных кормов;
- б) производства биогаза метана;
- в) очистки сточных вод;
- г) орошения пастбищ.

ВАРИАНТЫ КОНТРОЛЬНЫХ РАБОТ

Рекомендации к выполнению контрольной работы

Работа выполняется по одному из приведённых ниже вариантов. Номер варианта определяется по двум последним цифрам номера (шифра) зачётной книжки. В конце работы приводятся ссылки на источники литературы, которые использовались при её выполнении.

Вариант 01, 21, 41, 61, 81

1. Дать определение биоконверсии и привести примеры её использования.
2. Какие биохимические процессы происходят при выпечке хлеба?

Вариант 02, 22, 42, 62, 82

1. Какие продукты получают путём биоконверсии?
2. Применение амилазы в производстве этилового спирта.

Вариант 03, 23, 43, 63, 83

1. Сырьё, используемое в биоконверсии.
2. Что происходит с белками при выпечке хлеба?

Вариант 04, 24, 44, 64, 84

1. Общая характеристика ферментов.
2. Сырьё, применяемое для производства пищевого спирта.

Вариант 05, 25, 45, 65, 85

1. Механизм действия ферментов.
2. Применение брожения в биоконверсии.

Вариант 06, 26, 46, 66, 86

1. Отличия ферментов от неорганических катализаторов.
2. Характеристика микроорганизмов, применяемых для сбраживания плодово-ягодного сусла.

Вариант 07, 27, 47, 67, 87

1. Характеристика гидролаз. Привести примеры их использования в биоконверсии.
2. Микроорганизмы, применяемые в производстве спирта.

Вариант 08, 28, 48, 68, 88

1. Какие реакции катализируют амилазы?
2. Характеристика микроорганизмов, применяемых для сбраживания пивного сусла?

Вариант 09, 29, 49, 69, 89

1. Применение ферментов для осветления напитков.
2. Ферментация чайного листа.

Вариант 10, 30, 50, 70, 90

1. Механизм действия ферментов.
2. Использование остаточных дрожжей, являющихся отходами спиртовых производств.

Вариант 11, 31, 51, 71, 91

1. Общая характеристика протеаз.
2. Использование зерновых отходов спиртового и пивоваренного производств.

Вариант 12, 32, 52, 72, 92

1. Ферменты, применяемые для расщепления белков.

2. Пивное сусло, его получение и использование.

Вариант 13, 33, 53, 73, 93

1. Субстратная специфичность целлюлаз и их применение.
2. Микроорганизмы, применяемые для выпечки хлеба.

Вариант 14, 34, 54, 74, 94

1. Строение пектинов и ферменты, применяемые для их расщепления.
2. Денатурация белков и её роль в биоконверсии пищевого сырья.

Вариант 15, 35, 55, 75, 95

1. Применение ферментов в переработке молока.
2. Холодное помутнение пива и пути его устранения.

Вариант 16, 36, 56, 76, 96

1. Преимущества применения ферментных технологий перед другими способами переработки пищевого сырья.
2. Биохимические процессы, протекающие при созревании теста.

Вариант 17, 37, 57, 77, 97

1. Классификация ферментов с примерами.
2. Использование ферментов для осветления напитков.

Вариант 18, 38, 58, 78, 98

1. Оптимальная температура действия ферментов.
2. Промышленное использование ферментов класса гидролаз.

Вариант 19, 39, 59, 79, 99

1. Влияние рН на активность ферментов.
2. Зависимость жизнедеятельности микроорганизмов от температуры.

Вариант 20, 40, 60, 80, 00

1. Природные источники для получения ферментных препаратов.
2. Биохимический механизм бланширования.

ВОПРОСЫ К ЗАЧЁТУ

1. Дать определение биоконверсии.
2. Основные источники сырья для биоконверсии.
3. Вторичные источники сырья для биоконверсии.
4. Продукты, получаемые путем биоконверсии.
5. Продукты, получаемые путем микробиологической биоконверсии растительного сырья.
6. Дать краткую характеристику ферментам.
7. Отличия ферментов от неорганических катализаторов.
8. Условия, определяющие активность ферментов.
9. Молекулярное строение ферментов.
10. Коферменты и кофакторы.
11. Активаторы и ингибиторы ферментов.
12. Классификация и шифр ферментов.
13. Характеристика класса гидролаз.
14. Амилазы и их применение в переработке сырья.
15. Целлюлазы и их применение.
16. Пектиназы и их применение.
17. Протеолитические ферменты и их применение.
18. Какие микроорганизмы применяются в производстве хлебобулочных изделий?
19. Какой биохимический процесс протекает при созревании теста?
20. В каком температурном диапазоне протекает брожение в тесте?
21. При какой температуре прекращается жизнедеятельность кислотообразующих бактерий?
22. Что происходит с белками при выпечке хлеба?
23. Что происходит с крахмалом при выпечке хлеба?
24. Картофельная болезнь хлеба и её возбудители.
25. Факторы, препятствующие плесневению хлеба.
26. Сырьё, применяемое для производства пищевого этилового спирта.
27. Сырьё, применяемое для производства технического этилового спирта.
28. Применение амилаз в производстве спирта.
29. Применение дрожжей в производстве спирта.

30. Ферменты, применяемые для производства пивного сусла.
31. Микроорганизмы, применяемые для сбраживания пивного сусла.
32. Микроорганизмы, применяемые для сбраживания плодово-ягодного сусла.
33. С какой целью проводится обработка плодово-ягодного сока пектолитическими ферментами?
34. С какой целью проводится обработка вина протеолитическим ферментом.
35. Цель обработки ягод целлюлазой.
36. Цель обработки чайного листа целлюлазой.
37. Применение отходов дрожжевых производств.
38. Применение отходов виноделия и производства соков.
39. Применение зерновых отходов спиртового и пивоваренного производств.
40. Источники и пути использования диоксида углерода в био-конверсионных производствах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основной

1. Шлейкин А.Г., Жилинская Н.Т. Введение в биотехнологию. – СПб., 2013. – 95 с.
2. Сидоренко О.Д., Кутровский В.Н. Биоконверсия отходов агропромышленного комплекса. – М.: НИЦ Инфра-М, 2013. – 160 с.

Дополнительный

1. Инженерная энзимология / В.К. Османов, О.В. Бирюкова, А.В. Борисов, Г.Н. Борисова, Ж.В. Мацулевич: Учеб. пособие. – Нижний Новгород: Изд-во Нижегородской гос. мед. акад., 2005. – 75 с.

Ресурсы ИНТЕРНЕТ

www.wikipedia.org.
www.biotechnolog.ru;
www.rusbiotech.ru;
www.fermenter.ru;
www.inbio.ru;
www.microzym.ru.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ БИОКОНВЕРСИИ.....	5
ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ЖИВЫХ ОРГАНИЗМОВ.....	11
ПОЛУЧЕНИЕ И ПРОМЫШЛЕННОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЕРМЕНТОВ.....	18
Протеолитические ферментные препараты.....	23
Пектолитические ферментные препараты.....	23
Целлюлолитические ферментные препараты.....	24
РАБОЧАЯ ПРОГРАММА.....	30
Содержание дисциплины.....	32
МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ К САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЕ СТУДЕНТОВ.....	37
ТЕСТЫ ДЛЯ КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ СТУДЕНТОВ.....	40
ВАРИАНТЫ КОНТРОЛЬНЫХ РАБОТ.....	49
Рекомендации к выполнению контрольной работы.....	49
ВОПРОСЫ К ЗАЧЕТУ.....	53
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	55

Шлейкин Александр Герасимович

ОСНОВЫ БИОКОНВЕРСИИ

Учебно-методическое пособие

Ответственный редактор
Т.Г. Смирнова

Титульный редактор
Р.А. Сафарова

Компьютерная верстка
И.В. Гришко

Дизайн обложки
Н.А. Потехина

Печатается
в авторской редакции

Подписано в печать 18.12.2015. Формат 60×84 1/16
Усл. печ. л. 3,49. Печ. л. 3,75. Уч.-изд. л. 3,44
Тираж 50 экз. Заказ № С 98

Университет ИТМО. 197101, Санкт-Петербург, Кронверкский пр., 49

Издательско-информационный комплекс
191002, Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, 9