

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ,
МОЛОДІ ТА СПОРТУ УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД
«НАЦІОНАЛЬНИЙ ГІРНИЧИЙ УНІВЕРСИТЕТ»**

**БІОТЕХНОЛОГІЇ В ЕКОЛОГІЇ.
МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ**
до самостійної роботи студентів спеціальності
7(8).04010601 Екологія та охорона навколишнього середовища

Дніпропетровськ
2012

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ,
МОЛОДІ ТА СПОРТУ УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД
«НАЦІОНАЛЬНИЙ ГІРНИЧИЙ УНІВЕРСИТЕТ»**



ГІРНИЧИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра екології

**БІОТЕХНОЛОГІЇ В ЕКОЛОГІЇ.
МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ**
до самостійної роботи студентів спеціальності
7(8).04010601 Екологія та охорона навколишнього середовища

Дніпропетровськ
НГУ
2012

Біотехнології в екології. Методичні рекомендації до самостійної роботи студентів спеціальності 7(8).04010601 Екологія та охорона навколишнього середовища [Текст] / А.І. Горова, С.М. Лисицька, А.В. Павличенко та ін. – Д.: Національний гірничий університет, 2012. – 23 с.

Автори:

А.І. Горова, д-р біол. наук, проф.;

С.М. Лисицька, канд. с.-г. наук, доц.;

А.В. Павличенко, канд. біол. наук, доц.;

Т.В. Скворцова, канд. біол. наук, доц.;

В.В. Федотов, асист.

Затверджено методичною комісією з напряму підготовки 6.040106 Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування (протокол № 1 від 23.03.2012) за поданням кафедри екології (протокол № 2 від 20.03.2012).

Методичні матеріали покликані допомогти студентам у процесі самостійної роботи усвідомити екологічну спрямованість біотехнологій у різних галузях народного господарства, вони розкривають екологічні аспекти різних біотехнологічних процесів у їх практичному застосуванні, зокрема при вирішенні екологічних проблем на промислових виробництвах. Адресовано студентам відповідного напряму підготовки.

Відповідальна за випуск завідувач кафедри д-р біол. наук, проф. Горова А.І.

1. ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ

Дані методичні рекомендації мають на меті допомогти у вивченні дисципліни “Біотехнології в екології” студентам спеціальності 7(8).04010601 Екологія та охорона навколишнього середовища за програмою освітньо-кваліфікаційної підготовки спеціалістів і магістрів.

Вони містять теоретичні положення, принципові блок-схеми біотехнологічних виробництв, їх постадійний опис, питання для самоконтролю, довідковий матеріал у вигляді таблиць, контрольні завдання, список рекомендованої літератури. Дидактична мета цих рекомендацій – закріплення теоретичних знань, набутих у лекційному курсі, а також формування в студентів навичок самостійної пошуково-аналітичної роботи з даної дисципліни.

Останнім часом у світі (Україна не виняток) виникає немало екологічних проблем, що потребують нових альтернативних підходів, технологій, які були б безпечними для навколишнього середовища та здоров'я людей.

Так, негативні наслідки застосування традиційних технологій виробництва продукції, для яких звичайним є механічне подрібнення, використання високотемпературних хімічних каталізаторів, підвищених концентрацій реагентів, високого тиску та інших факторів активації процесів, не можна подолати тільки шляхом раціонального природокористування. Сучасні сільськогосподарські технології не здатні відновлювати природні екосистеми (це стосується втрати родючого шару ґрунтів, виснаження енергетичних ресурсів тощо).

Біотехнологічні процеси з притаманними їм м'якими умовами технологічних режимів (невисокі температури, малий тиск, нейтральні середовища, висока швидкість реакцій при незначних концентраціях компонентів та ін.) виявились найбільш наближеними до природних. З цієї причини людство пов'язує свої науково-технічні пріоритети, стратегію розвитку й соціальну політику саме з біологічними технологіями.

Разом з тим, біотехнологія базується на принципах перетворення й переміщення у просторі матеріалів, енергії, інформації, а це властиво живим організмам, біологічним системам і природним комплексам, тобто біотехнологічні процеси відповідають законам екологічної рівноваги та гомеостазу. Вивчення саме цих аспектів допоможе у вирішенні проблем охорони природи.

Еколого-економічними перевагами біотехнологічних методів є те, що вони пов'язані із знешкодженням різного характеру забруднень, з біопереробкою відходів промислових підприємств, а також з виробництвом екологічно безпечної, чистої продукції на основі дешевої та доступної сировини. Серед екологічних плюсів біотехнологічних підприємств треба згадати незначні газоподібні викиди, які не перевищують і частки процента від викидів промисловості взагалі.

Самостійне опанування екологічних аспектів сучасних біотехнологій допоможе студентам усвідомити доцільність використання біотехнологічних методів для захисту довкілля.

2. ОСНОВНІ СТАДІЇ ВИРОБНИЦТВА БІОТЕХНОЛОГІЧНОЇ ПРОДУКЦІЇ

Біотехнологічні продукти – це речовини, що утворюються внаслідок життєдіяльності живих клітин, тканин біооб'єктів у штучних умовах. Серед найбільш поширеної *біотехнологічної продукції* треба назвати біологічно активні речовини (вітаміни, ферменти, гормони, амінокислоти, білки, вуглеводи, нуклеотиди, антибіотики, стероїди, імуноглобуліни, алкалоїди, пестициди та ін.), продукти бродіння (спирти, органічні кислоти, ацетон), енергетичні речовини (біогаз, етанол, водень), рідкі метали (продукти біометалургії), речовини харчового (фруктозо-глюкозний сироп) та кормового призначення, медичні препарати (вакцини, компоненти крові, моноклональні антитіла).

Біотехнологічний процес – це сукупність виробничих етапів, у яких використовується життєдіяльність організмів або продукти їх метаболізму. Біотехнологічний процес включає три основні стадії: 1 – підготовчу (доведення біологічного об'єкта до потрібного стану); 2 – культивування біооб'єкта; 3 – відділення, очищення та модифікація цільового продукту.

Основою сучасних біотехнологічних виробництв є мікробіологічний синтез. Об'єкти рослинного й тваринного походження менш поширені в біотехнологічних процесах, ніж мікроорганізми, через високі вимоги до умов їхнього культивування (зазвичай такі виробничі процеси потребують значних витрат). Характерна особливість мікроорганізмів – їх здатність до надсинтезу, тобто до надлишкового утворення деяких продуктів обміну речовин (багатьох амінокислот, нуклеотидів, вітамінів), які перевищують потреби мікробної клітини.

Реалізація біотехнологічного процесу відбувається за принциповою схемою, яку зображено на рис. 1.

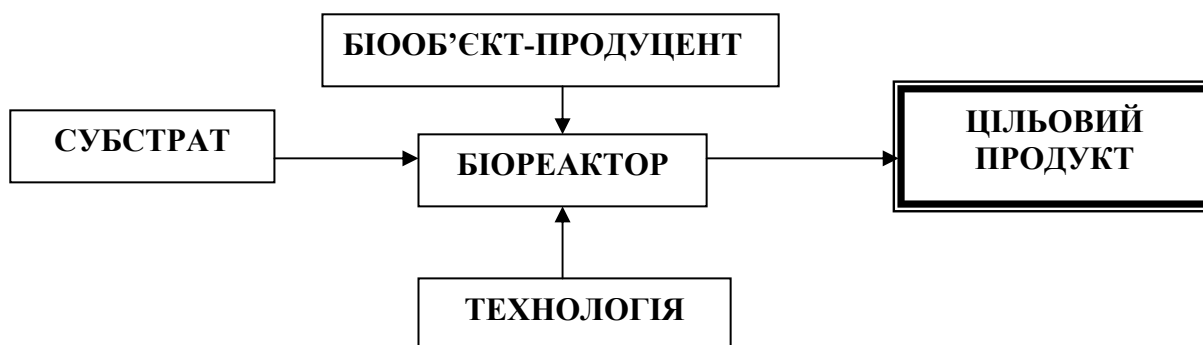


Рис. 1. Блок-схема біотехнологічного процесу

Реальні біотехнологічні виробництва можуть використовувати різні біооб'єкти-продуценти, сировину, передбачати різну кількість виробничих стадій, особливі технологічні режими. З огляду на це, пропонуємо узагальнену типову схему біотехнологічного виробництва (рис. 2).



Рис. 2. Узагальнена схема стадій біотехнологічного виробництва

Схема включає ряд стадій, у кожній з яких сировина послідовно перетворюється спочатку в проміжні продукти, а потім у кінцевий продукт.

Основною серед цих стадій є власне *біотехнологічна*, на якій використовують той чи інший біологічний об'єкт-продуцент (мікроорганізми, ізольовані клітини, тканини, ферменти або клітинні органели), на основі якого утворюється цільовий продукт. Технологічні процеси біотехнологічної стадії можуть мати такі назви:

– *ферментація*, тобто культивування мікроорганізмів (виробництво кефіру, йогурту шляхом молочнокислого бродіння; виробництво спирту, пива – спиртовим бродінням; виготовлення амінокислоти лізину, лимонної кислоти з м'яса – відходів цукрового виробництва; виробництво кормового білка шляхом нарощування дріжджової біомаси);

– *біотрансформація* – перетворення хімічної структури речовини під впливом ферментативної активності клітин мікроорганізмів або готових ферментів, при якому не виникає нагромадження клітин мікроорганізмів, а здійснюється хімічна модифікація речовин субстрату шляхом додавання чи вилучення радикалів, гідроксильних іонів або дегідрування (виробництво стероїдних гормонів, алкалоїдів, антибіотиків);

– *біокаталіз* – хімічне перетворення речовини з використанням ферментів-біокаталізаторів (культивування грибів шляхом ферментативного руйнування целюлозовмісних рослинних відходів, використання біосенсорів);

– *біоокиснення* – утилізація речовин-забруднювачів за участю мікроорганізмів або асоціації мікроорганізмів в аеробних умовах (початкова аеробна стадія силосування, очищення стічних вод з використанням біофільтрів);

– *метанове бродіння* – переробка органічних відходів за допомогою асоціації метаногенних мікроорганізмів в анаеробних умовах (виробництво біогазу з використанням органічних відходів);

– *біокомпостування* – це зниження кількості шкідливих органічних речовин у твердих відходах за допомогою асоціації мікроорганізмів (наприклад, мікробне очищення ґрунту від нафтових забруднень);

– *біосорбція* – поглинання шкідливих домішок із газів або рідин мікроорганізмами, які закріплені на спеціальних твердих носіях (наприклад, очищення стічних вод з використанням біофільтрів);

– *біодеградація* – руйнування шкідливих сполук під впливом мікроорганізмів-деструкторів (анаеробна стадія силосування, мікробне розкладання пестицидів);

– *бактеріальне вилуговування* – процес переведення нерозчинних сполук металів за допомогою мікроорганізмів у розчинний вигляд (виділення металів із піритних руд).

Екологічні напрями застосування біотехнологічної продукції базуються на екологічній безпечності та на біосинтетичних можливостях таких біооб'єктів-продуцентів:

– **вірусів**, наприклад, у *медицині* це розробка вакцин, біопрепаратів для створення в організмі штучного імунітету, використання рекомбінантних

вакцин; у *фармацевтичній промисловості*: створення діагностикумів, вакцин, векторів на основі ДНК-вмісних вірусів рослин;

– **бактерій** для отримання кормового білка на різних субстратах, біогазу, одержання вітамінів (B_2 , B_{12}), гормонів, ферментів, органічних кислот;

– **грибів** з метою одержання амілолітичних, ліполітичних ферментів, вітамінів (β -каротину, D , C), отримання харчового білка, а також у виготовленні сирів, кисломолочної продукції; зокрема використання дріжджів для виготовлення етанолу, пива, вина, харчового та кормового білка тощо;

– **водоростей** у виробництві харчових добавок, кормового білка, енергії (фотоліз води), для очищення стічної води в аеротенках, очищення води за допомогою біофільтрів;

– **найпростіших** як складової частини активного мулу при очищенні водоймищ і стічних вод, у ролі тест-індикаторів;

– **черв'яків** для одержання біогумусу (як добрива), біогумату (фітогормонів).

– **вищих рослин** як трансгенних організмів з покращеними якісними показниками та підвищеною продуктивністю (наприклад, виведення нових більш продуктивних сортів і гібридів сільськогосподарських чи інших видів рослин за допомогою методів селекції або оздоровлення садового матеріалу методами генної і клітинної інженерії);

– **клітинних культур людини й тварин** з метою виділення та перенесення диференційованих клітин на штучне живильне середовище *in vitro*, які стануть продуцентами фізіологічно активних речовин – гормонів росту, мукополісахаридів, колагену, кортикостероїдів, білків, ферментів та ін., а також створення методами клітинної інженерії моноклональних антитіл, які синтезуються гібридомними лімфоїдними клітинами;

– **різних видів живих організмів**, біосинтетичні властивості яких можуть підвищуватися шляхом клонування та експресією генів.

Якщо в біотехнологічному процесі біооб'єктом є певний штам мікроорганізму, то **підготовча стадія** включає методи одержання спочатку в лабораторних умовах (у чашках Петрі або в пробірках) **накопичувальної культури** шляхом виділення клітин мікроорганізму із невеликих проб будь-якого субстрату (грунту, водного середовища, мулу, повітря), а далі – **чистої культури** (одного виду клітин). Малі розміри мікроорганізмів дають можливість в одній пробірці одержати чисту культуру та вивчити особливості передачі її спадкових ознак.

Стадія культивування мікроорганізмів у біореакторі певного типу відповідно до заданої технології передбачає підбір субстрату для забезпечення клітин організму комплексом необхідних для нього розчинених живильних речовин (органічних, неорганічних), що підтримують життєдіяльність цього організму (ріст, розмноження, тобто конструктивні й енергетичні процеси).

На **заклучній стадії біотехнологічного процесу** продукту надається товарна форма шляхом **гранулювання** (формування гранул з порошку або безпосередньо з розчину), **таблетування** (формування таблеток чи драже), **виготовлення ампул** (розлив, фасування).

У багатьох біотехнологічних процесах під час культивування біооб'єктів утворюються двофазні системи, у яких твердою фазою виступає маса клітин продукту біосинтезу (*біомаса*), а рідкою – рідина з розчиненими залишками живильних речовин та продуктів біосинтезу, де проходив процес культивування біомаси (*культуральна рідина*). За таких умов належить враховувати хімічну природу цільового продукту, а також, де він міститься: у клітині чи в культуральній рідині, чи продуктом є сама клітинна біомаса.

Методами відділення біомаси від культуральної рідини є сепарування та центрифугування; фільтрація; осадження за допомогою флокулянтів; дистиляція; сублімація; зневоднення (випарювання, сушіння); ліофілізація; заморожування; осадження шляхом змін розчинності речовини; кристалізація; сорбція; екстракція; ультрафільтрація на мембранних фільтрах.

Важливий і відповідальний етап заключної стадії – модифікація (зміна) продукту для його подальшого використання людиною та зберігання. Модифікація – необхідний етап у виготовленні багатьох ферментів, гормонів, препаратів медичного призначення. Мова йде про перебудову сполук тваринного, рослинного або мікробного походження з метою надання їм специфічних властивостей, необхідних людині. Наприклад, з бичачого інсуліну вилучають амінокислотні залишки, після чого він стає ідентичним людському гормону.

Методи збереження (консервації) біопродукції передбачають такі процеси: ліофілізацію (зневоднення під вакуумом після заморожування); повітряне сушіння; зберігання у вигляді спор; кріоконсервацію (глибоке заморожування в рідкому азоті при -196°C); поєднання кількох процесів, наприклад, часткового сушіння з подальшою ліофілізацією.

Перелічені методи дозволяють створити умови для збереження клітин мікроорганізмів без втрати цінних якісних властивостей навіть тоді, коли в них гальмуються життєво важливі процеси, зокрема, генетичні зміни (клітини перебувають у стані, схожому на анабіоз).

Контрольні питання для самоперевірки

1. Як у наш час прийнято визначати поняття біотехнології?
2. Які найбільш відомі продукти біотехнології ви знаєте?
3. У яких галузях промисловості використовують біотехнології?
4. Охарактеризуйте екологічну спрямованість біотехнологічних виробництв.
5. Якими ознаками характеризується сучасний етап розвитку біотехнологій в екології?
6. Які особливості притаманні розвитку екологічних біотехнологій в Україні?
7. Окресліть проблеми екологічної біотехнології в сучасних умовах.
8. Що є науково-методичною базою біотехнології?
9. Який внесок зробили вчені України у розвиток біотехнології?
10. Які актуальні господарські проблеми вирішують різні біотехнології?

11. Які конкретні завдання ставляться перед екологічно спрямованими біотехнологіями?
12. З яких основних стадій складається біотехнологічний процес?
13. Які існують світові аналоги вітчизняним розробкам біотехнологічних процесів?
14. Чому розвиток біотехнології в Україні можна назвати перспективним?
15. Які напрями передбачає стратегія розвитку біотехнології у світі?
16. Які наукові принципи й підходи використовують учені для реалізації своїх біотехнологічних розробок?
17. Назвіть види господарської продукції, яку можна отримувати методами біотехнології?
18. Яка послідовність можливого комплексного вирішення екологічних проблем?

3. ТЕХНОЛОГІЧНІ ПРИНЦИПИ, БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ Й СХЕМИ ДЕЯКИХ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ВИРОБНИЦТВ

Найбільш поширеними в багатьох галузях народного господарства є *біотехнологічні процеси*, що відбуваються за участю мікроорганізмів (ферментативні процеси). Вони застосовуються для приготування ряду харчових продуктів (кисломолочних, сиру, хліба), виробництва спирту, вин, пива, органічних кислот (оцтової, лимонної, молочної та ін.), амінокислот (серед яких незамінні: валін, лейцин, лізин, фенілаланін, триптофан тощо), ферментів (амілолітичних, протеолітичних, ліполітичних), антибіотиків (пеніциліну, ампіциліну, стрептоміцину та ін.), окремих вітамінів (А, групи В, С, D), органічних розчинників (ацетону, бутанолу).

Одержання цих продуктів базується на процесі *бродиння*.

Бродіння – це ферментативний окиснювально-відновний процес отримання енергії, у якому від субстрату (донора) відщеплюється гідроген (або електрони) та переноситься на продукти – органічні речовини (акцептори) за дотримання певних умов.

Розщеплення різних сполук субстратів являє собою джерело енергії для клітин мікроорганізмів, в основному у вигляді органічної речовини – аденозінтрифосфату (АТФ). Процеси, унаслідок яких відбувається виділення енергії – це реакції біологічного окиснення. При цьому обов'язковим продуктом, що виділяється з речовин клітин, є діоксид вуглецю (СО₂).

Дегідрування субстратів каталізується переважно складними ферментами, небілковою частиною яких є піридинозалежні дегідрогенази (нікотинамідаденіннуклеотид – НАД⁺ та нікотинамідаденіннуклеотидфосфат – НАДФ⁺). Вони виступають основними акцепторами в перенесенні гідрогену.

Залежно від кінцевого акцептора гідрогену (або електронів) процеси мають різні назви: *дихання, бродіння* або *анаеробне дихання*.

При *диханні* окиснення речовин проходить до кінця – з утворенням СО₂ та Н₂О.

При *бродинні* утворюються низькомолекулярні органічні речовини, які можуть виступати в ролі енергетичних джерел (наприклад, етиловий спирт, оцтова кислота, молочна кислота, ацетон, бутанол та ін.). Продукти, що виникають у процесі бродиння, виділяються в живильне середовище та накопичуються в ньому. **Кисень у бродинні не бере участь.**

Унаслідок *анаеробного дихання* утворюються низькомолекулярні неорганічні речовини (нітрати, сульфати).

Базовою для багатьох бродильних процесів є універсальна реакція перетворення глюкози в піруватоградну кислоту (піруват).

Залежно від виду метаболітів, переважне утворення яких спостерігається при бродинні, виділяють такі його види: спиртове, молочнокисле, оцтовокисле, пропіоновокисле, маслянокисле, ацетонобутилове, метановокисле (рис. 3).

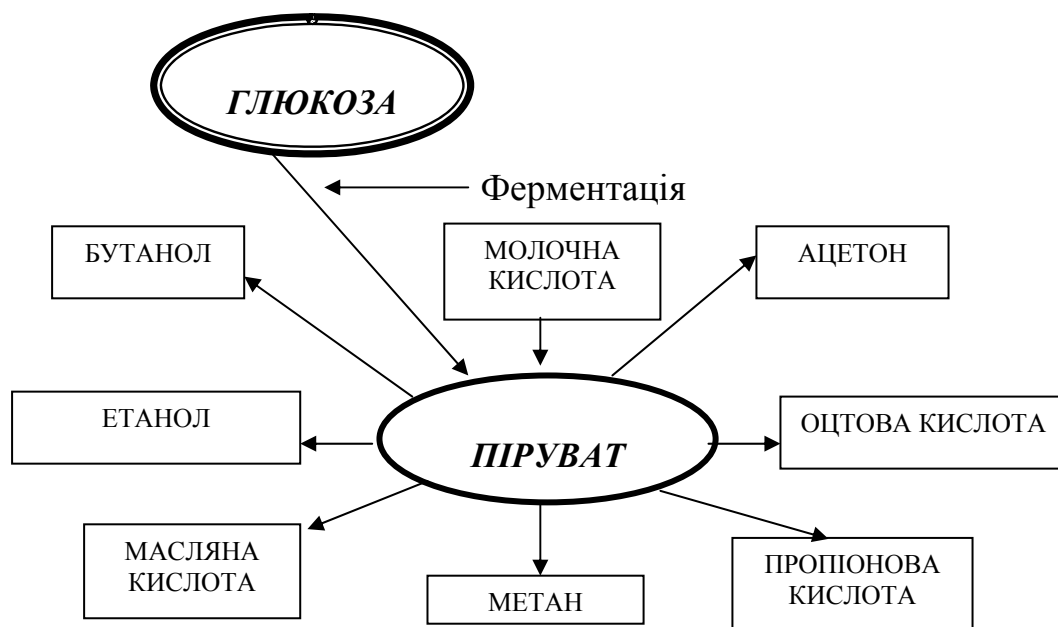


Рис. 3. Схема видів бродиння на основі пірувату з отриманням різної продукції

Перевага мікроорганізмів як об'єктів біотехнології полягає в тому, що вони достатньо легко адаптуються до живильних середовищ (особливо до температурних змін), здатні забезпечувати швидкий ріст клітинної біомаси за одиницю часу, інтенсивний перебіг ферментативних реакцій. До того ж для них характерна "простота" організації генома, а це створює кращі умови для обміну речовин.

Перелічені вище види бродиння проходять за участю різних груп мікроорганізмів. Для прикладу можна розглянути деякі типи бродильних анаеробних процесів.

Спиртове бродиння. Продукентами *етилового спирту* є дріжджі (примітивні голосумчасті гриби) родини *Saccharomyces*, *Candida*, деякі міцеліальні гриби (*Aspergillus oryzae*), також деякі бактерії (*Sarcina ventricular*). Але основним продуцентом при цьому залишаються дріжджі. Спиртове бродиння – це анаеробний процес (без участі кисню), його хімічна формула:



Субстрати спиртового бродіння: рослинні матеріали (зернові, картопля, патока, меляса – відходи цукрового виробництва, целюлозовмісні відходи (деревини, однорічних рослин).

Використання етанолу різноманітне, зокрема він може слугувати як органічний розчинник, сировина для органічного синтезу, застосовуватись у медицині (антисептичний матеріал), у харчовій промисловості (винно-спиртове виробництво), у парфумерії, а також як паливо та ін.

Крім одержання етанолу (рис. 4), спиртове бродіння використовують в інших виробництвах, наприклад для виготовлення пива, квасу, хлібобулочних виробів; у технічних галузях для отримання гідролізного спирту, органічних розчинників.

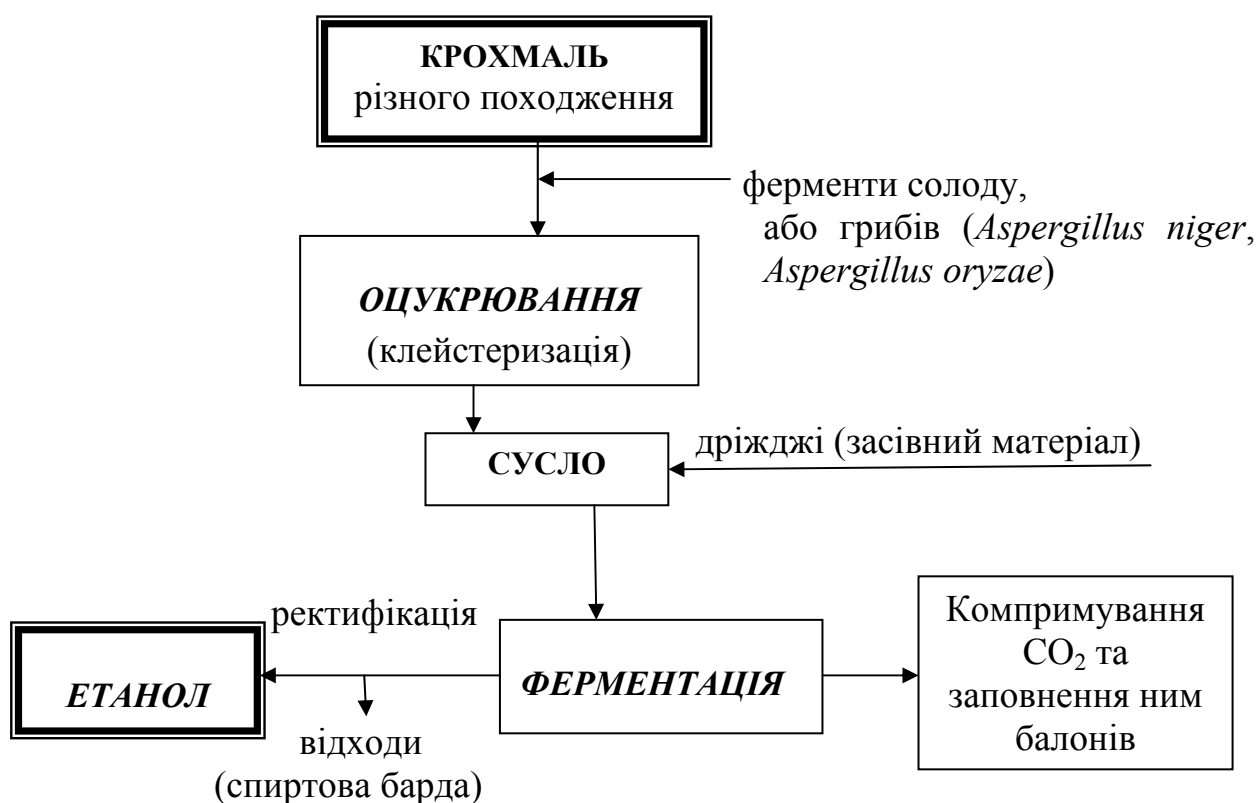


Рис. 4. Принципова технологічна блок-схема одержання етанолу з крохмалевмісної сировини (картопля, кукурудза, зерно та ін.)

На основі деревини комплексно виготовляють гідролізний етанол та кормові дріжджі (це, так зване, комбіноване використання целюлози). При цьому доцільно використовувати целюлозні відходи (подрібнену деревину, бадилля однорічних сільськогосподарських рослин).

Застосування відходів як сировини для біотехнологічних виробництв можливе тільки з урахуванням рентабельності їх переробки. Так, відходи рослинного походження, що йдуть на виготовлення живильних середовищ (гідролізатів) для проведення ферментативного процесу мікробного синтезу етанолу, доцільно переробляти тільки тоді, коли концентрація спирту в культуральній рідині буде не нижчою 4,5–5 %.

Під час переробки відходів деревини найбільш повно використовуються складові компоненти вуглеводного характеру (целюлоза, геміцелюлози). За рахунок цього технології комплексно поєднуються у процес одержання чистої целюлози й біотехнологічної переробки отриманих при цьому вторинних відходів у гідролізний спирт і кормові дріжджі.

Серед відходів целюлозного виробництва – також відпрацьовані сульфітні луги, що вміщують до 3 % редукувальних речовин (табл. 1).

Таблиця 1

Узагальнені складові компоненти сульфітних лугів

Компоненти	Вміст, %
Сухі речовини	11,5–12,2
Редукувальні речовини (у перерахунку на глюкозу)	2,0–2,7
Зброджені вуглеводи (у перерахунку на глюкозу)	1,3–1,9
Метоксильні групи	0,78–0,8
Зольність	1,2–2,1
Загальна концентрація сірки	0,9–1,6
Оксид кальцію	0,6–1,0
Сульфати	0,1

Склад цукрів у сульфітних лугах, отриманих, наприклад після переробки ялини такий: глюкоза – до 29 %, галактоза – до 4,2 %, маноза – до 43 %, пентоза – до 17 %, уронові кислоти – до 3 %, фруктоза – до 4 %. На величину якісних і кількісних показників сульфітних лугів впливають сорти й походження вихідної деревини.

Схематично процес промислової комбінованої переробки целюлози, виготовленої з деревинних відходів, подано на рис. 5.

Після сульфітної варки целюлози (за наявності кислотного каталізатора – H_2SO_3) із сульфітних лугів спочатку методом сепарації видаляють залишки целюлози, які відправляють на подальшу біотехнологічну переробку. Першою стадією за участю спеціальних штамів дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* проводиться спиртове збродження гексоз (зокрема глюкози) з отриманням так званого «сульфітного» спирту. Це найбільш дешевий етанол, який вміщує до 2–8 % метанолу та інших домішок. Його використовують для технічних потреб. Друга стадія передбачає використання відфільтрованої культуральної рідини, у яку додають поживні солі та мікроелементи, а потім вносять засівну культуру спеціальних штамів дріжджів для одержання кормової біомаси.

Розрахунками показано, що, поєднуючи виробництво спирту й кормової біомаси, можна отримати на 1 т сухої деревини: етанолу – 175–182 л, метанолу – 2 кг, сивушних масел – 0,3 кг, фурфуролу – 5,6 кг, діоксиду вуглецю (рідкого)

– 70 кг, лігніну (абсолютно сухого) – 380 кг, гіпсу (CaSO_4) – 225 кг, дріжджів (вологості 10 %) – 32 кг.

Крім того, на базі сульфітних лугів можна виготовляти грибну кормову біомасу, яка утворюється за участю сапрофітного штаму *Raecilomyces varioti*, здатного утилізувати гексози, пентози й ацетат.

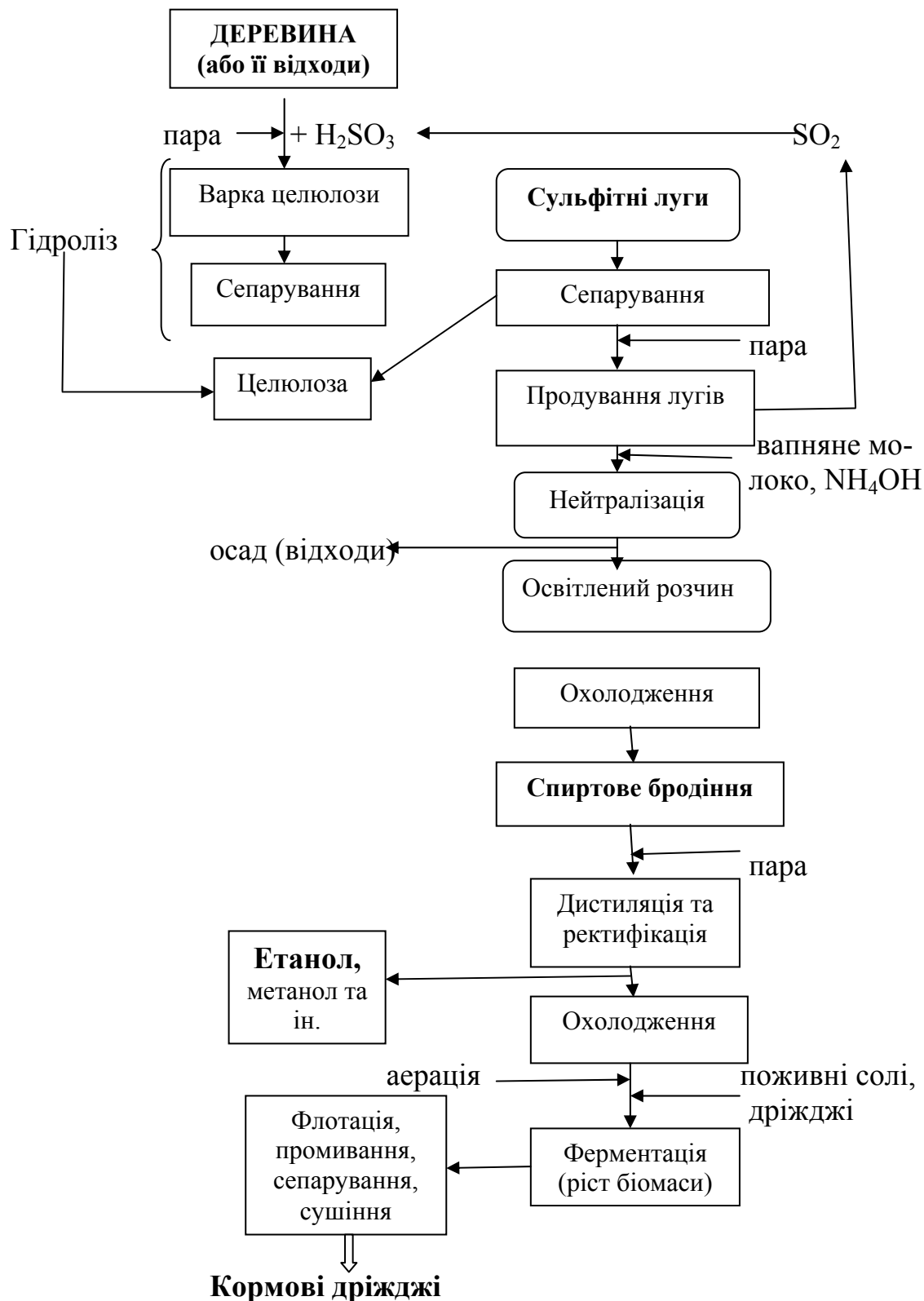
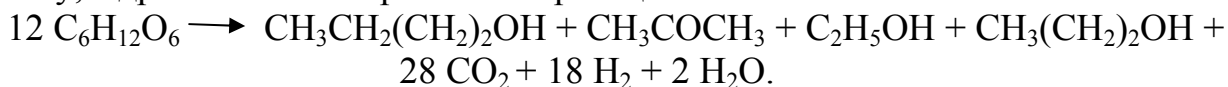


Рис. 5. Схема комбінованого використання целюлози

Ацетонобутилове бродіння. Серед продуцентів процесу: спорові бактерії *Clostridium acetobutylicum*, результатом життєдіяльності яких в анаеробних умовах виявляються метаболічні речовини – джерела енергії, зокрема ацетон, бутанол, етанол, оцтову, масляну й молочну кислоти, діоксид карбону, водень за таким рівнянням реакції:



При низьких значеннях рН середовища виникає активація ферментів, які беруть участь у перетворенні пірувату найчастіше в ацетон та бутанол, а інші метаболіти виявляються міноними (супровідними). З цієї причини таке бродіння називають ацетонобутиловим.

Субстрати ацетонобутилового бродіння: вуглеводи (крохмаль, патока або м'яса, гідролізати целюлози, сульфатні луги).

Використання: для виготовлення органічних розчинників, екстрагентів, в органічному синтезі (виробництво лакофарбових матеріалів, естерів та ін.).

Молочнокисле бродіння. Його продуцентами слугують молочнокислі бактерії кулькових форм – коки (*Streptococcus lactis*, *Pediococcus* та ін.); паличкові зі спорами: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus bulgaricus* та ін., які перетворюють вуглеводи (піруват) у молочну кислоту.

Субстрати при цьому використовують складні, вони можуть включати вітаміни групи В (В₁, В₂), пантотенову (В₃), ніотинову (В₅) та фолієву кислоти (В_с), біотин; деякі амінокислоти; пурини, піримідини; деякі органічні кислоти аліфатичного ряду (оцтову, лимонну, олеїнову); дріжджові екстракти; томатний сік, молочну сироватку й навіть кров. У зв'язку з утворенням значної кількості молочної кислоти у живильне середовище для стабілізації буферності додають карбонат кальцію.

Використання молочної кислоти різноманітне, зокрема в харчовій (виготовлення хліба), текстильній, фармацевтичній промисловості; у ролі пластифікатора; для виготовлення розчинників. Молочнокисле бродіння застосовується при квасінні овочей і фруктів, у молочній промисловості (кисломолочні продукти, закваски, сири); при силосуванні кормів, а також у медицині.

Метанове бродіння. Серед його продуцентів – складні мікробні асоціації, що включають такі групи: аеробні бактерії, які перетворюють продукти деструкції целюлози; анаеробні ацетогенні бактерії *Clostridium acetium*, *Clostridium thermoaceticum*, *Acetobacterium woodii*, які ферментують утворені первинні метаболіти бродіння; метанотвірні бактерії *Methanobacterium formicicum*, *Methanospirillum hungati*, для яких вищеназвані сполуки є подальшими поживними субстратами).

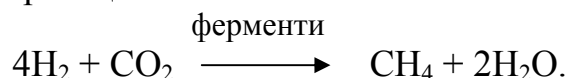
Субстратами для життєдіяльності кожної групи бактерій слугують певні органічні речовини, а саме: для бактерій-аеробів – полісахариди (целюлоза, геміцелюлоза); для ацетогенів – продукти деструкції целюлози (янтарна, пропіонова, масляна, молочна, оцтова кислоти, спирти, СО₂ і Н₂); для метаногенів – ацетат (оцтова), форміат (мурашина) кислоти, СО₂ та Н₂.

На останньому етапі продукти життєдіяльності метанових бактерій – ацетат, діоксид вуглецю та водень, перетворюються переважно на метан (90 % цього газу утворюється саме в цей момент).

Слід зазначити, що попередній третій етап біосинтезу оцтової кислоти – найбільш важливий, бо зумовлює швидкість процесу метаноутворення. Оптимальний рівень рН при цьому підтримується на рівні 7 (коливання можуть відбуватися в діапазоні 6,6–8).

Основним джерелом енергії для життєдіяльності метанових бактерій є саме молекула H_2 (донор водню) та діоксид вуглецю, який бере участь у біосинтезі клітинних речовин перелічених вище видів бактерій.

Утворення метану відбувається за такою спрощеною відновною біокаталітичною реакцією:



Анаеробний процес утворення метану являє собою *метаногенез*. Унаслідок *метаногенезу* утворюється газова суміш, яка називається *біогазом*, вона має такий склад: метан (CH_4) – 50–75 %, вуглекислий газ (CO_2) – до 25–30 %, сірководень (H_2S) – 1 % і незначна кількість азоту (аміаку), кисню, водню та закису вуглецю. *Використання біогазу*: він може бути енергоносієм біологічного походження або альтернативним видом палива.

Контрольні питання для самоперевірки

1. Чому в біотехнології використовують процес бродіння?
2. Які види біотехнологічної продукції можна виготовити на основі бродіння?
3. Розкрийте принципи основних видів бродіння.
4. Які групи мікроорганізмів беруть участь у спиртовому бродінні?
5. Які властивості метаногенних бактерій зумовлюють їхню можливість участі у виготовленні біогазу?
6. У чому виявляються переваги біотехнологічної переробки відходів деревини?
7. Яку екологічну роль відіграють мікроорганізми в біотехнологічних процесах?
8. Що являють собою сульфідні луки?
9. Які екологічні переваги мають біотехнологічні процеси виробництва органічних розчинників (ацетону й бутанолу)?
10. У яких галузях національної економіки використовується молочнокисле бродіння?
11. Визначте екологічний аспект використання целюлозовмісних відходів у біотехнології.
12. Який хімічний зміст спиртового, ацетонобутилового, молочнокислого типів бродіння?
13. Якими складовими компонентами характеризується біогаз?
14. Яку речовину називають «гідролізним спиртом»?

4. НАЙБІЛЬШ ТИПОВІ ПРИКЛАДИ БЛОК-СХЕМ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ВИРОБНИЦТВ ЕКОЛОГІЧНОГО СПРЯМУВАННЯ

Екологічна спрямованість біотехнологій полягає, насамперед, у вирішенні різноманітних проблем довкілля, що виникають як негативний наслідок господарської діяльності людини. При цьому враховуються особливості та мінливість навколишнього середовища під дією антропогенних факторів, ведеться пошук шляхів збереження стійкості й підвищення репродуктивної здатності біосфери.

Функції біотехнології як екологічно орієнтованої науки спрямовуються на вирішення цілого ряду комплексних виробничих завдань, завдяки виконанню яких вдається уникнути загрози порушень збалансованості екосистем (наприклад, вичерпання природних ресурсів, нестачі продуктів, енергії тощо). У цьому аспекті вони виступають як базові в подоланні продовольчих, енергетичних, сировинних та екологічних проблем.

Реалізацію біотехнологічних виробництв, спрямованих на збереження та відтворення природних ресурсів (біологічне очищення стічних вод, повітря, біовідновлення ґрунтів, знешкодження токсичних речовин тощо) доцільно розглянути у вигляді блок-схем, що включають послідовність стадій масообміну речовин, показують можливість утилізації відходів, біотехнологію отримання цільового продукту (рис. 6–10).

Будь-який промисловий біотехнологічний процес починається з *підготовчої стадії* (отримання чистої культури засівного матеріалу, вибору й підготовки з певної сировини субстратних речовин для його культивування). *Основна стадія культивування* передбачає створення необхідних технологічних умов для проведення *ферментації* (бродиння). На *завершальній стадії* отримують товарний продукт і забезпечують безвідходність виробництва (утилізацію відходів).

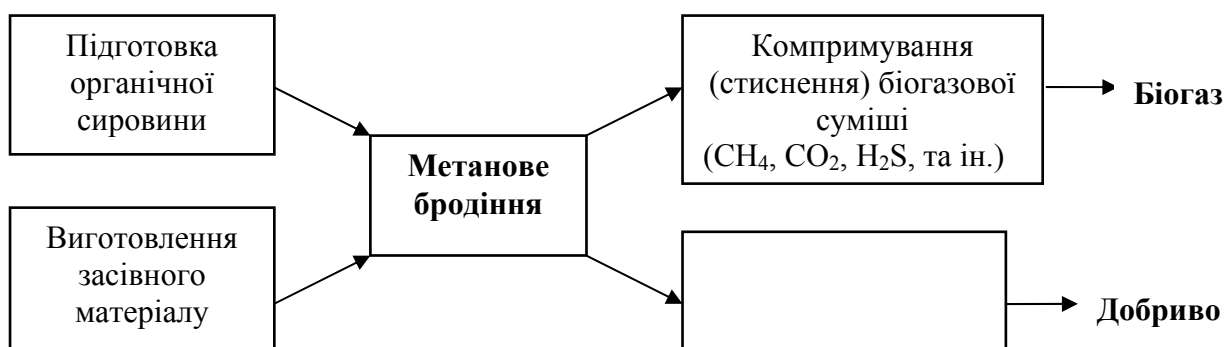


Рис. 6. Блок-схема виробництва біогазу на основі органічного субстрату

Метанове бродіння дешевих органічних целюлозовмісних матеріалів дозволяє виробляти повноцінне альтернативне біологічне паливо (біогаз).

Для поліпшення якості компосту, отриманого на основі органічних відходів рослинного походження, скорочення терміну його утворення доцільно застосувати сучасну інтенсивну біотехнологію вермикомпостування (рис. 7).

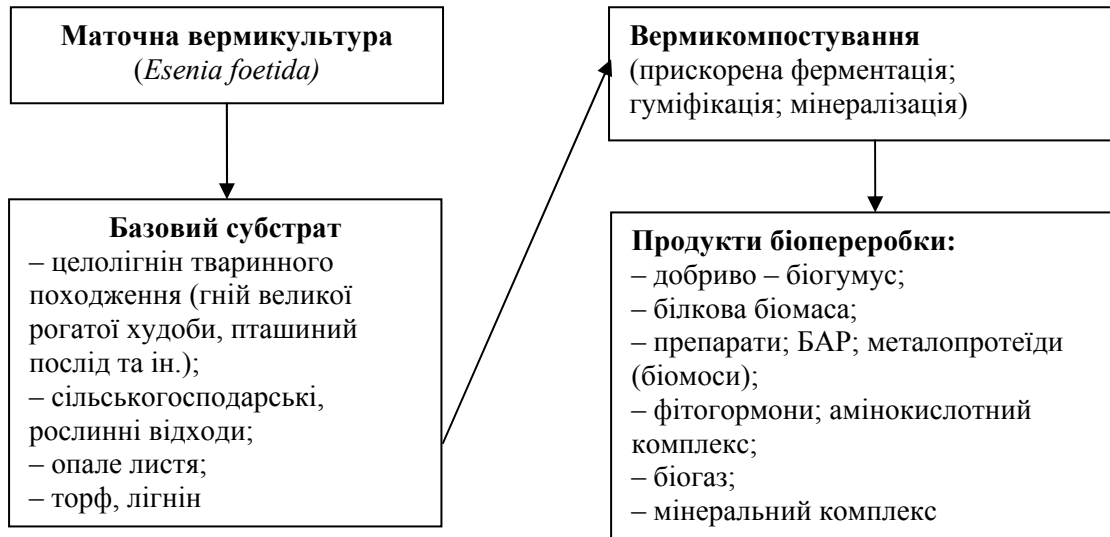


Рис. 7. Типова блок-схема організації біотехнологічної переробки органічних відходів методом вермикомпостування

Очищення промислових і побутових стічних вод – це досить актуальна екологічна проблема. З метою її вирішення на практиці використовуються багатоступеневі процеси аеробного та анаеробного біохімічного окиснення забруднюючих речовин у стічних водах (рис. 8).

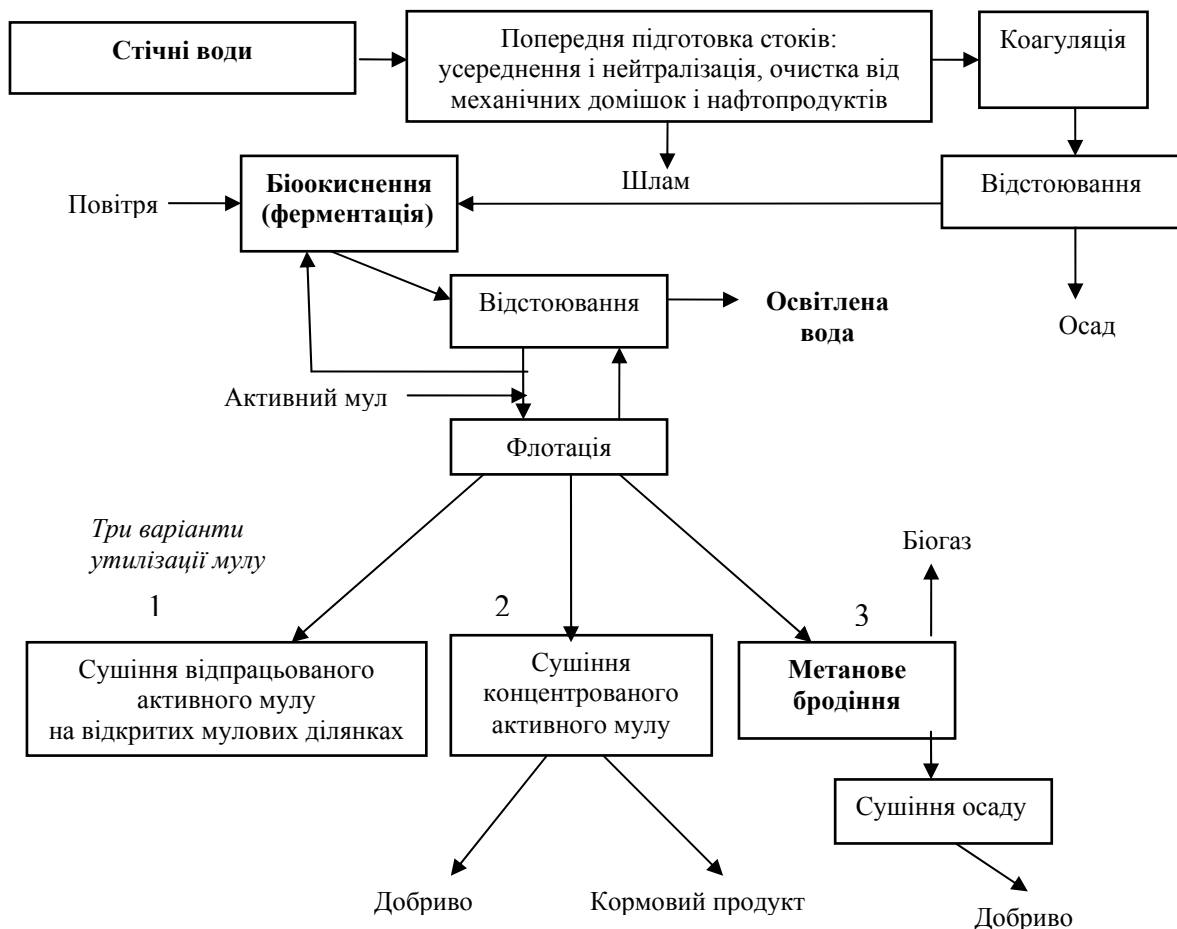


Рис. 8. Блок-схема біотехнологічного очищення стічних вод

Як показує схема (рис. 8), підготовлені стоки проходять стадію біоокиснення, де відбувається сорбція та перетворення органічних речовин ферментним комплексом активного мулу. Це аеробний процес, який відбувається в біореакторах-аеротенках, куди подається повітря. Далі мулові маси відділяються від рідини відстоюванням, а очищена вода надходить у водоймище. Згущений активний мул частково повертається на стадію біоокиснення, а його надлишок утилізується одним з трьох зображених на схемі способів.

Взагалі вибір біологічного методу очищення стоків залежить від значення показника концентрації розчинених у воді органічних забруднень – показника біохімічного поглинання кисню (БПК_{повн.}). Зокрема, якщо забруднення становить:

- до 1000 мг/л, то доцільно використовувати аеробні методи;
- від 1000 до 5000 мг/л – економічна вмотивованість аеробних й анаеробних методів практично однакова;
- понад 5000 мг/л, то перевагу слід надавати анаеробним методам.

При цьому необхідно враховувати не тільки концентрацію поллютантів, норми витрат стічних вод, а також те, що анаеробні процеси, на відміну від аеробних, призводять до утворення газоподібних продуктів (метану, аміаку, сірководню), а це впливає на якість очищеної води. За таких умов при високому рівні забруднення на початкових стадіях застосовують анаеробне очищення, а на кінцевих – аеробне.

Як відомо, при експлуатації нафтових родовищ технологічні процеси добування й підготовки вуглеводневої продукції дуже негативно впливають на природне середовище. І тут основними забруднювачами довкілля виступають нафта, природний газ, газові конденсати тощо. Маючи підвищену міграційну активність, нафта й нафтопродукти не локалізуються, а розтікаються на поверхні землі чи води у вигляді плівки, потрапляючи всередину ґрунту, водоймища. Доведено, що наявність смолистих нафтових речовин у гумусовому шарі ґрунту призводить до його ущільнення, порушення в ньому повітряного обміну, а відтак зменшення кількості кисню, необхідного для функціонування мікробіоценозу.

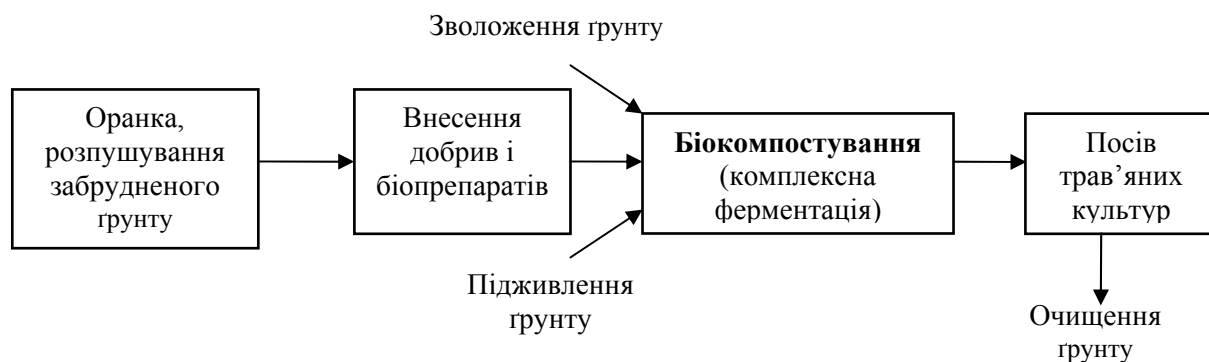


Рис. 9. Блок-схема мікробіотехнологічного очищення ґрунту від нафтового забруднення

Згідно зі схемою (рис. 9) спочатку ґрунт на забрудненій ділянці розпушують, далі вносять добриво й біопрепарат (бактерії-нафтодеструктори), які беруть участь у біокомпостуванні. Унаслідок життєдіяльності названих бактерій, для яких нафтопродукти – поживні речовини, останні руйнуються до безпечних сполук (діоксиду вуглецю і води). Використання біотехнологічного методу виявилось ефективним у рекультиваційному відновленні техногенно порушених ґрунтів.

Останнім часом набула поширення промислова біотехнологія добування металів із мінеральної сировини (біогеометалургійна технологія). Її здійснюють шляхом *біологічного вилуговування* (розчинення) за участю ацидофільних мікроорганізмів-хемолітотрофів, які проявляють активність в екстремальних умовах (підвищена температура й кислотність середовища).

Переважна роль у біотрансформації металів із мінералів рудних порід у розчину форму (рис. 10) належить термофільним археям *Thiobacillus* (*Thiobacillus ferrooxidans*, *Leptospirillum ferrooxidans*, *Sulfolobus*, *Th-штами*), які належать до гетеротрофних мікроорганізмів.

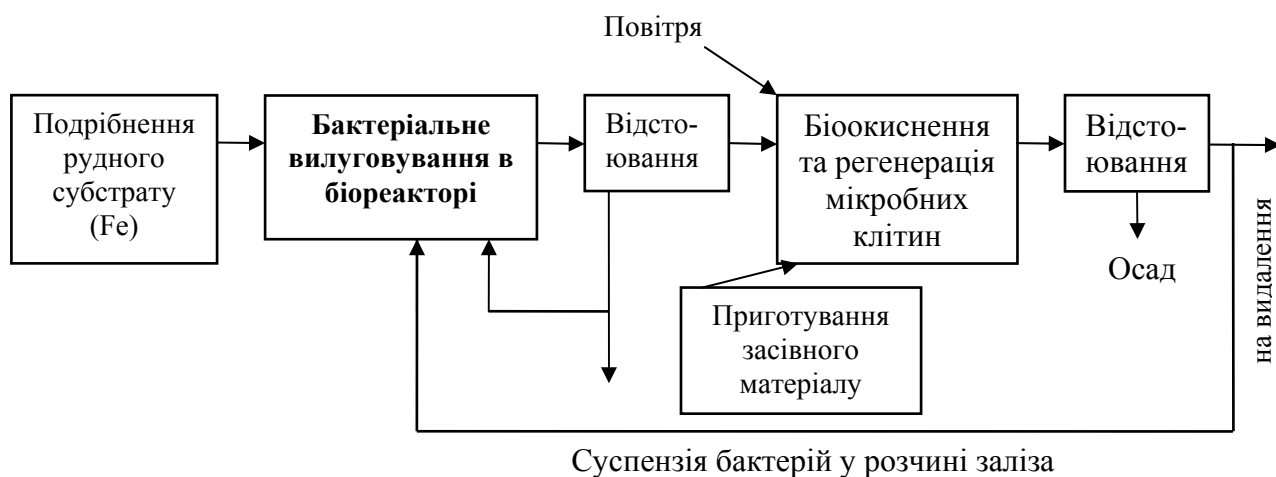


Рис. 10. Блок-схема бактеріального вилуговування металів з руди

Бактеріальне вилуговування дозволяє отримувати металеві елементи навіть з тих мінеральних середовищ, де вони наявні в незначних кількостях, не порушуючи при цьому цілісності навколишнього середовища. На практиці вилуговування досить успішно застосовують у таких екологічних процесах, як очищення стічних вод від забруднення важкими металами.

До екологічних переваг використання біогеометалургійних технологій слід віднести можливість збереження цілісності земної поверхні, запобігання утворенню відвалів пустих гірських порід, забрудненню водоймищ стічними водами, атмосфери шкідливими речовинами тощо.

4.1. Завдання для самостійної роботи

У зв'язку з тим, що подані вище блок-схеми біотехнологічних виробництв (рис. 4–10) включають схожі технологічні стадії (підготовчу, ферментаційну, отримання готового продукту, утворення і утилізації відходів), належить їх проаналізувати таким чином:

1. Визначити, які складові елементи кожної із схем характеризують вищеназвані стадії, виявити серед них схожі й ті, що відрізняються.

2. За результатами розгляду схем, заповнити таблицю, відповідно до поданого нижче зразка.

Таблиця 2

Біотехнологічні виробництва	Біотехнологічні стадії			
	Сировина, мікробна культура	Ферментація (вид бродіння)	Готова продукція	Вид відходів, утилізація
1. Спиртове виробництво				
2. Виробництво біогазу				
3. Вермикомпостування				
4. Очищення стічних вод				
5. Біоочищення ґрунту від нафти				
6. Бактеріальне вилуговування				

Рекомендована література

1. Хиггинс, И. Биотехнология [Текст]: пер. с англ. / И. Хиггинс, Д. Беет, Дж. Джонс. – М.: Мир, 1988. – 480 с.
2. Елинов, Н.П. Основы биотехнологии [Текст]: учеб. пособие для студ., асп. и практич. работников / Н.П. Елинов. – С.Пб.: Наука, 1995. – 600 с.
2. Егорова, Т.А. Основы биотехнологии [Текст]: учеб. пособие для высш. пед. учеб. завед. / Т.А. Егорова, С.М. Клунова, Е.А. Живухина. – М.: Академия, 2003. – 208 с.
4. Сазыкин, Ю.О. Биотехнология [Текст]: учеб. пособие для студ. высш. учеб. завед. / Ю.О. Сазыкин, С.Н. Орехов, И.И. Чакалева.– М.: Академия, 2006. – 256 с.
5. Галяс, В.Л. Біохімічний і біотехнологічний словник [Текст] / В.Л. Галяс, А.Г. Колотницький. – Л.: Оріяна-Нова, 2006. – 468 с.
6. Бирюков, В.В. Основы промышленной биотехнологии [Текст]: учеб. пособие для студ. высш. учеб. завед. / В.В. Бирюков. – М.: КолосС, 2004. – 296 с.

ЗМІСТ

ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ.....	3
2. ОСНОВНІ СТАДІЇ ВИРОБНИЦТВА БІОТЕХНОЛОГІЧНОЇ ПРОДУКЦІЇ.....	4
3. ТЕХНОЛОГІЧНІ ПРИНЦИПИ, БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ Й СХЕМИ ДЕЯКИХ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ВИРОБНИЦТВ.....	9
4. НАЙБІЛЬШ ТИПОВІ ПРИКЛАДИ БЛОК-СХЕМ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ВИРОБНИЦТВ ЕКОЛОГІЧНОГО СПРЯМУВАННЯ.....	16
4.1. Завдання для самостійної роботи.....	20
Рекомендована література.....	21

Горова Алла Іванівна
Лисицька Світлана Майорівна
Павличенко Артем Володимирович
Федотов Вячеслав Вікторович

БІОТЕХНОЛОГІЇ В ЕКОЛОГІЇ.
МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ ДО САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ
СТУДЕНТІВ СПЕЦІАЛЬНОСТІ 7(8).040106 ЕКОЛОГІЯ ТА
ОХОРОНА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА

Редактор О.Н. Ільченко

Підписано до друку 03.04.2012. Формат 30 x 42/4.
Папір офсет. Ризографія. Ум. друк. арк. 1,3.
Обл.-вид. арк. 1,6. Тираж 50 пр. Зам. №

ДВНЗ "Національний гірничий університет"
49027, м. Дніпропетровськ, просп. К. Маркса, 19.