

Н.С. Егоров

Промышленная микробиология

**Москва
«Книга по Требованию»**

УДК 61
ББК 58
Н11

Н11 **Н.С. Егоров**
Промышленная микробиология / Н.С. Егоров – М.: Книга по Требованию,
2013. – 688 с.

ISBN 978-5-458-24370-4

ISBN 978-5-458-24370-4

© Издание на русском языке, оформление
«YOYO Media», 2013

© Издание на русском языке, оцифровка,
«Книга по Требованию», 2013

Эта книга является репринтом оригинала, который мы создали специально для Вас, используя запатентованные технологии производства репринтных книг и печати по требованию.

Сначала мы отсканировали каждую страницу оригинала этой редкой книги на профессиональном оборудовании. Затем с помощью специально разработанных программ мы произвели очистку изображения от пятен, клякс, перегибов и попытались отбелить и выровнять каждую страницу книги. К сожалению, некоторые страницы нельзя вернуть в изначальное состояние, и если их было трудно читать в оригинале, то даже при цифровой реставрации их невозможно улучшить.

Разумеется, автоматизированная программная обработка репринтных книг – не самое лучшее решение для восстановления текста в его первозданном виде, однако, наша цель – вернуть читателю точную копию книги, которой может быть несколько веков.

Поэтому мы предупреждаем о возможных погрешностях восстановленного репринтного издания. В издании могут отсутствовать одна или несколько страниц текста, могут встретиться невыводимые пятна и кляксы, надписи на полях или подчеркивания в тексте, нечитаемые фрагменты текста или загибы страниц. Покупать или не покупать подобные издания – решать Вам, мы же делаем все возможное, чтобы редкие и ценные книги, еще недавно утраченные и несправедливо забытые, вновь стали доступными для всех читателей.

Введение

Перед микробиологической промышленностью страны поставлены большие задачи по ускоренному развитию производств, базирующихся на микробиологическом синтезе, и обеспечению значительного роста выпуска продукции. В решении этой огромной народнохозяйственной задачи должны принять активное участие не только ученые — микробиологи, химики и технологи, но и выпускники университетов, специализировавшиеся по микробиологии. Вооружение будущих специалистов знаниями в области промышленной микробиологии — составная часть подготовки кадров микробиологов, один из основополагающих разделов обучения студентов по названной специальности.

Промышленная микробиология — это наука о важнейших микробиологических процессах и их практическом применении для получения индустриальным способом ценных продуктов жизнедеятельности микроорганизмов, их биомассы как важнейшего белкового продукта, о получении отдельных полезных веществ (препаратов), используемых в различных отраслях народного хозяйства и медицине. В основе этой науки лежит микробиологическая технология (биотехнология), являющаяся воплощением результатов фундаментальных исследований (физиологии, биохимии и генетики микроорганизмов в практику.

Промышленная (иногда называют технической) микробиология — один из основных разделов современной микробиологии. Основателем этого направления науки и практики в Советском Союзе был выдающийся русский микробиолог академик В. Н. Шапошников (1884—1968). Созданная им школа советских микробиологов внесла существенный вклад в становление и развитие отечественной промышленной микробиологии.

Этот раздел микробиологии рассматривает теоретически и решает практически многие проблемы, связанные с производством большого числа продуктов, образующихся в результате микробиологического синтеза. Микроорганизмы, обладая широким набором разнообразных ферментных систем, способны образовывать в процессе жизнедеятельности различные продукты обмена, весьма ценные для практической деятельности человека. Микробы также способны модифицировать природные или химически синтезированные соединения в вещества, нужные для практики.

К числу процессов, осуществляемых микроорганизмами и относящихся к промышленной микробиологии, принадлежит ряд

производств. Прежде всего это такие древнейшие производства, как хлебопечение, виноделие, пивоварение, получение уксуса, кисломолочных продуктов (простокваши, кефира, кумыса, йогурта и др.). Многие из перечисленных производств существовали в относительно широких масштабах до того, как были получены первые сведения о микроорганизмах — возбудителях указанных процессов. В качестве заквасок для этих производств использовались микроорганизмы, случайно попавшие и развившиеся в самом сырье. Однако после того, как удалось выделить микроорганизмы, осуществляющие спиртовое, молочнокислое и пропионовокислое брожения, глубоко и подробно изучить их физиологические и биохимические особенности, названные процессы были взяты под строгий научный контроль специалистов-микробиологов.

Промышленная микробиология обеспечивает соответствующие отрасли народного хозяйства молочной, масляной и лимонной кислотами, этиловым и бутиловым спиртами, ацетоном и другими продуктами брожения. В организации и становлении промышленного получения этих веществ в нашей стране, в частности молочной кислоты, бутанола и ацетона, решающую роль сыграли исследования В. Н. Шапошникова и его учеников Н. Д. Иерусалимского и М. Н. Бехтеревой; производство лимонной кислоты связано с именами С. П. Костычева (1877—1931) и В. С. Буткевича (1872—1942).

Во второй половине XX в. развитие промышленной микробиологии в СССР и во многих других странах характеризуется очень быстрыми темпами. В нашей стране создана специальная отрасль этой промышленности, возглавляемая Министерством медицинской и микробиологической промышленности СССР.

Начало бурного развития микробиологической промышленности связано с разработкой в 40-х годах XX в. промышленного получения пенициллина. Индустриальное производство этого очень ценного антибиотика и его широкое применение в медицинской практике послужили мощным стимулом поиска новых антибиотических веществ и разработки более совершенных методов их промышленного получения. В настоящее время около сотни антибиотиков, предназначенных для медицины, сельского хозяйства, пищевой промышленности, освоены микробиологической промышленностью и выпускаются в необходимых количествах. Следует подчеркнуть, что большой размах получил в последние годы выпуск химически модифицированных антибиотических средств.

Вслед за развитием антибиотической промышленности на основе ее опыта быстрое развитие получили такие отрасли промышленной микробиологии, как производство аминокислот, ферментов, витаминов, гормонов и других биологически активных соединений, синтезируемых микроорганизмами. Промышленное производство этих ценнейших продуктов жизнедеятельности микробов дало возможность здравоохранению, сельскому хозяйству и пищевой промышленности использовать названные вещества в практической деятельности.

Особенно большой размах в последнее десятилетие получило производство микробного белка — этого крайне необходимого продукта, широко используемого в сельском хозяйстве. В настоящее время в нашей стране производится около 1 млн. т микробного белка, а в дальнейшем его количество должно существенно увеличиться, так как потребность народного хозяйства в кормовом белке значительно возрастет. Этот ценнейший продукт получают в результате использования микроорганизмами непищевых веществ (парафинов, отходов молочной и мясной промышленности). В ближайшей перспективе расширение производства микробного белка будет связано с использованием одноуглеродных соединений, в частности метана и метилового спирта. Хорошие результаты получают и при использовании в качестве источника углерода этилового спирта. Применение названных соединений углерода (метана, метанола, этанола) дает возможность получать микробную массу без каких-либо посторонних примесей, а это имеет существенное значение.

Последнее десятилетие обогатило промышленную микробиологию введением в практику иммобилизованных ферментов и иммобилизованных клеток микроорганизмов. Использование иммобилизованных ферментов в технологии (инженерная энзимология) значительно повышает эффективность микробных биокатализаторов (ферментов) в производстве ряда ценных веществ, позволяет получать чистые продукты. Применение иммобилизованных клеток микроорганизмов испытано с целью получения некоторых органических кислот, отдельных антибиотиков (пенициллина, бацитрацина, низина) и других соединений. Положительные результаты исследований позволили организовать некоторые производства, основанные на использовании иммобилизованных клеток микроорганизмов.

Развивающимся разделом промышленной микробиологии является процесс трансформации различных природных и химически синтезированных соединений с помощью микроорганизмов для получения более ценных препаратов, используемых прежде всего в медицинской практике, а также для очистки сбросов ряда производств от токсичных соединений. В качестве примера можно указать на биологическую трансформацию стероидов, антибиотиков, соединений пиридинового ряда.

Современная промышленная микробиология — основа биотехнологии — решает многие вопросы, связанные с биосинтезом, трансформацией и другими направлениями индустриальной деятельности, где главными «технологами» служат клетки микроорганизмов или их ферментные системы, иммобилизованные на определенном нейтральном носителе.

В связи с широким использованием микроорганизмов — продуцентов разнообразных продуктов их жизнедеятельности — первоочередными следует назвать задачи получения их высокопродуктивных штаммов, обладающих ценными биосинтетическими свойствами. Эти задачи в тесном контакте с микробиологами реша-

ют генетики, а также специалисты, владеющие методами генетической инженерии. Путем повышения биосинтеза и выхода нужного конечного продукта следует признать создание вместо монокультуры смешанных микробиологических систем, состоящих не менее чем из двух организмов: продуцента того или иного соединения и организма, стимулирующего образование этого вещества. Методы смешанного культивирования микроорганизмов находят применение при промышленном получении некоторых антибиотиков, ферментов, витаминов, метана. Используются эти методы и при очистке сточных вод. Изучение процессов, осуществляемых смешанными культурами микроорганизмов для получения ряда ценных продуктов биосинтеза, весьма прогрессивно и заслуживает серьезного внимания.

К проблемам промышленной микробиологии относятся вопросы защиты высокоактивных продуцентов различных ценных продуктов метаболизма микроорганизмов от фаговых атак, от фагового загрязнения культур микроорганизмов, используемых в промышленности. Противофаговая защита промышленных штаммов микроорганизмов представляет серьезную научную и экономическую проблему.

Разработка и совершенствование методов сохранения высокопродуктивных штаммов микроорганизмов, используемых на практике, также представляет одну из задач современной промышленной микробиологии.

Все вышесказанное — свидетельство того, что промышленная микробиология объединяет большой перечень проблем, решение которых требует широкого использования современных методов исследования и участия в этом не только микробиологов, но и специалистов других областей биологии, а также инженеров и технологов.

Глава 1 ИСТОРИЯ ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

Человек с древних времен начал использовать деятельность микроорганизмов, не подозревая об их существовании, и эмпирически совершенствовал технологии применения этих организмов во многих отраслях хозяйства. Трудно точно установить, где и в каких отраслях хозяйства впервые начали использовать жизнедеятельность микроорганизмов. По-видимому, это определялось многими факторами и шло иногда параллельными путями у разных народов.

Еще в древние времена процессы брожения использовались при приготовлении теста. В пирамидах Египта, построенных около 6000 лет назад, находили караваи хлеба. Египтяне для приготовления хлеба использовали осадки бродящего пивного сусла. С незапамятных времен хлебные лепешки готовили в Средней Азии и других регионах.

Об изготовлении вина до нас дошло много поэтических мифов и легенд. Наибольшее количество их было создано античным миром, особенно в Греции. Находим мы их в фольклорах Греции, Италии, Персии и других стран. В пирамидах Египта сохранились рисунки, изображающие технологию приготовления вина. Около двух тысяч лет назад начало развиваться виноделие во Франции, а затем и в других странах Европейского континента. На территории Советского Союза (в Грузии, Армении, на побережье Азовского моря) вина также стали изготавливать с давних времен. Бродительные напитки в древности готовили не только из винограда, но и из других ягод (малины, ежевики, кизила). С первых шагов развития виноделия человек неизбежно сталкивался с процессом скисания вина -- с образованием уксуса.

Хлебные напитки, напоминавшие современное пиво, также имеют многовековую историю. Считают, что пиво изготавливали за 7000 лет до н. э. Технология приготовления его была высоко развита в Вавилоне, откуда искусство приготовления пива было заимствовано Египтом, Персией, Грецией и другими странами. В Германии пивоварением начали заниматься одновременно с земледелием. В Армении в IV в. до н. э. умели готовить крепкое пиво. С IX в. пиво получило довольно широкое распространение

в России. В XI—XII вв. его готовили в Киевской и Новгородской Руси.

История оставила мало документов о времени возникновения изготовления кисломолочных продуктов. Однако можно утверждать, что их приготовление было известно уже в начале развития животноводства. До сих пор сохранилось много народных способов приготовления различных национальных продуктов, получаемых на основе молочнокислого и спиртового брожения: простокваша, кефир, кумыс, мацони, аэран, сузьма и др.

Пектиновое брожение, лежащее в основе мочки льна, конопли и других прядильных растений, при котором происходит разрушение пектиновых веществ с выделением из них прядильных волокон, также известно человеку 3—4 тысячелетия.

Значительно позже научились получать этиловый спирт. Спирт вначале применяли только в медицине под названием «*Aquata vitae*» — вода жизни. Водка вошла в быт позже. В Европе заводы, производящие винный спирт, появились в середине VII в. Получение этилового спирта описано в Вятской летописи XII в.

Эмпирически для процессов брожения были разработаны довольно сложные технологические приемы. Например, в папирусах египтян изложены способы исключения воздуха на второй ступени этих процессов.

Уже на заре своего развития человечество столкнулось не только с полезной деятельностью микроорганизмов, но и с результатами их негативного воздействия на продукты питания, здоровье человека и домашних животных и искало способы борьбы с этими явлениями.

С развитием скотоводства и земледелия и появлением в результате этого некоторых излишков пищи, которые надо было хранить, возникла необходимость разработки методов предотвращения порчи продуктов. Использовали сушку, замораживание, соление, квашение, а также исключали доступ воздуха для остановки аэробных процессов разложения (например, мясо заливали жиром). Интересно отметить, что многие практические приемы, используемые для приготовления пищи, напитков и для их хранения, разработанные в различных странах, были идентичны.

Во второй половине XV в. наметилось зарождение современного естествознания. В это время вышли труды группы алхимиков, подписанные «Василий Валентин», в которых отмечалась связь брожения с химическими преобразованиями. В XVII в. стало опутимым влияние материалистических идей в естествознании. Многие крупные исследователи того времени интересовались проблемой брожения. Английский физик и химик Р. Бойль в 1661 г. писал, что, поняв природу ферментов и ферментации, можно будет лучше понять и природу возникновения различных болезней. Немецкий врач и химик Г. Э. Шталь выдвинул концепцию, согласно которой брожение — это процесс внутреннего движения белковых веществ, а фермент переносит это движение на сбраживаемые вещества.

Большой вклад в изучение химизма брожения внес французский химик А. Л. Лавуазье (1743—1794). Он почти точно количественно определил весовые пропорции водорода, углерода и кислорода в исходных и конечных продуктах брожения. Именно в этих работах была изложена основная идея закона сохранения материи.

Открыть, увидеть микроорганизмы позволило создание достаточно сильных оптических приборов. К середине XVIII в. было описано большое количество микроорганизмов. Это, как отмечал К. А. Тимирязев, был блестящий дебют микроскопа. Однако успехи в изучении свойств микроскопических организмов были незначительны.

Плодотворные исследования в этом направлении были начаты в 40-х годах XIX в. Французский ботаник Ш. Каньяр-де-Латур (1837) высказал мысль, что брожение вызывают дрожжи, которые, по его мнению, имеют растительное происхождение. Одновременно к такому же выводу пришли немецкие ученые Т. Шванн и Ф. Кютцинг. Однако теория о биологической природе брожения подверглась атаке со стороны высокоавторитетных химиков — Ю. Либиха, Ф. Вёлера, И. Я. Берцелиуса, Э. Митчерлиха. Общепринятым было мнение Либиха о том, что брожение — это химическое явление, вызываемое в разнообразных телах разлагающимися белковыми веществами.

Формирование микробиологии как науки связано с работами знаменитого французского ученого Луи Пастера (1822—1895). В истории мировой науки трудно найти другого исследователя, чьи работы имели бы такое большое теоретическое значение и вместе с тем дали бы такой большой практический эффект. К. А. Тимирязев считал, что Пастер оказал такое влияние на практические стороны человеческой деятельности, какого не оказывал ни один человек за всю историю цивилизации. В цикле замечательных трудов Пастер неоспоримо доказал, что процессы брожения — не простые химические явления, а результат воздействия на субстраты определенных микроорганизмов. Это было показано им при исследовании молочнокислого, спиртового и маслянокислого брожений. Пастер первый установил также, что не все микроорганизмы нуждаются в молекулярном кислороде. Изучая маслянокислые бактерии, он показал, что воздух вреден для них. Так были открыты облигатные анаэробы. Эти результаты вызвали бурю протеста, так как было признано, что без молекулярного кислорода жизнь невозможна. Брожение, по утверждению Пастера, — это «жизнь без кислорода воздуха». На основе своих исследований Пастер разрабатывает теорию ведения процессов брожения в ряде производств, учит, как следует «разводить» полезные микроорганизмы и вести борьбу с вредными.

Исследования Пастера завершили многовековой спор о возможности самопроизвольного зарождения жизни. Изыщными, легко воспроизводимыми опытами он доказал, что в питательных

средах, в которых убиты микроорганизмы, жизнь не зарождается даже при соприкосновении с воздухом, если в последнем они отсутствуют.

Велики заслуги Пастера и в познании причин болезней вин, инфекционных заболеваний шелковичных червей, домашних животных и человека, а также в разработке способов борьбы с ними.

Многие рекомендации Пастера, в частности прогрев до температур, уничтожающих вредных микроорганизмов, но не влияющих на качество продукта (впоследствии получивший название пастеризации), широко применяются и сейчас в винодельческой, молочной и других отраслях пищевой промышленности.

Гениальный ученый, самоотверженный труженик лабораторного стола, решивший огромное количество проблем, важных для человечества, Луи Пастер по праву считается основоположником современной микробиологии, в том числе промышленной.

Крупной вехой в развитии микробиологии и в разработке технологии микробиологических производств было получение чистых культур микроорганизмов. Значительный вклад в решение этой проблемы внес известный немецкий ученый Р. Кох (1843—1910).

Работа с чистыми культурами не могла быть осуществлена без аппаратуры для стерилизации посуды и сред, применяемых для культивирования микроорганизмов (автоклав, сушильные шкафы и т. д.) и определения технологии этого процесса. В разработку таких методов большой вклад внесли Л. Пастер, Р. Кох, Д. Тиндаль, Ш. Шамберлен и другие ученые. Большая заслуга по выделению чистых культур в промышленности принадлежит датскому ученому Э. Х. Гансену. Разработка метода чистых культур позволила создать научно обоснованную технологию процессов, основанных на жизнедеятельности микроорганизмов, и способствовала получению стабильных продуктов.

В познании химизма процессов брожения большое значение имело изучение ферментов, осуществляющих этот процесс.

В 1872 г. русский врач и биохимик М. М. Манассеин отметил, что спиртовое брожение может проходить в отсутствие живых клеток. Окончательно вопрос о возможности осуществления брожения без живых клеток микроорганизмов был решен в конце XIX в. Немецкие ученые — братья Г. и Э. Бухнеры в 1897 г. показали, что экстракт растертых дрожжей способен вызывать спиртовое брожение. Они предполагали, что этот процесс вызывается одним ферментом. Русский ученый А. Н. Лебедев усовершенствовал способ получения из дрожжей экстракта, содержащего ферменты, и показал, что процесс брожения осуществляется во много этапов рядом ферментов. Так было установлено, что причиной брожения могут быть как сами живые клетки, так и ферменты, образуемые клеткой. Работы по изучению ферментов, вызывающих брожение, послужили основой для становления

биохимии как науки. Они послужили также стимулом для изучения ферментов микроорганизмов.

В развитие отечественной и мировой микробиологии большой вклад внес С. Н. Виноградский (1856—1953). Наряду с фундаментальными работами по микробиологии почвы он совместно с В. Л. Фрибесом выделил и изучил анаэробную бактерию, разлагающую пектиновые вещества и вызывающую разрыхление льняных волокон при промышленном процессе — мочке лубяных культур. Эти работы имели не только теоретическое, но и большое практическое значение. Ученику Виноградского В. Л. Омелянскому (1867—1928) принадлежат классические исследования по анаэробному разложению целлюлозы и образованию микроорганизмами метана.

В начале XX в. в России, Англии, США, Германии начались исследования промежуточных этапов процесса спиртового брожения. В первые два десятилетия исследование спиртового брожения шло параллельно изучению гликолиза в мышцах (было установлено сходство этих процессов). Дальнейшие глубокие исследования путей превращения углеводов и других веществ микроорганизмами позволили влиять на ход вызываемых ими процессов, направляя его в сторону, нужную для получения желаемого продукта. Это создало научные предпосылки для значительного расширения микробиологических производств.

Во время первой мировой войны военные потребности оказали влияние на появление ряда новых производств. Так, Германия остро нуждалась для военных целей в глицерине (ранее его получали из естественных, в основном животных жиров). Изучение биохимических процессов, лежащих в основе синтеза глицерина, позволило наладить микробиологический способ его производства из сахара и мелассы. Недостаток жиров способствовал организации их производства с помощью гриба *Endomyces vernalis* по технологии, разработанной П. Линднером.

В эти годы возросла также потребность в ацетоне для производства взрывчатых веществ. Х. Вайсман организовал в Англии микробиологическое производство ацетона из кукурузной муки. В Америке также было налажено получение ацетона и бутилового спирта из сахара при помощи бактерий по способу Фернбаха — Вайсмана.

С конца XIX в. в ряде стран появились сообщения о возможности получения органических кислот с помощью микроорганизмов, делались попытки наладить их производство. В 1923 г. было организовано первое микробиологическое промышленное производство лимонной кислоты, затем были созданы возможности производства молочной, глюконовой и некоторых других органических кислот. На этом этапе они оказались более рентабельными и вытеснили другие химические процессы. Вплоть до 1940 г. производство ряда органических кислот, ацетона, бутанола, пропанола, этилового спирта, глицерина осуществлялось в основном микробиологическими способами. Впоследствии методы органиче-

ского синтеза и очистки настолько усовершенствовались, что некоторые из этих веществ начали производить химическим способом. Следует, однако, отметить, что в последнее время в связи с недостатком энергетических ресурсов вновь возрос интерес к микробиологическим методам получения ряда таких продуктов.

После революции перед пищевой промышленностью нашей страны стояла задача перехода от кустарных производств к крупным. Это требовало проведения процессов по заранее устанавливаемым технологическим схемам. На теоретическую разработку биохимических и микробиологических процессов, лежащих в основе технологии приготовления пищевых продуктов, были направлены усилия ряда ученых. В. Л. Омелянский, В. А. Николаев, Г. Л. Селибер и другие исследователи изучали микроорганизмы хлебопекарного производства и разрабатывали научные основы брожения теста. Работы С. А. Королева, А. Ф. Войткевича и других ученых по микробиологии молока и молочных продуктов способствовали развитию этой отрасли производства.

Для подъема сельского хозяйства проводили исследования по бактериальным удобрениям и силосованию кормов.

В стране развивались и новые микробиологические производства. На основе исследований В. Н. Шапошникова и его сотрудников в 20-х годах было разработано микробиологическое производство молочной и масляной кислот, а в 30-х годах — ацетона и бутилового спирта.

Исследования по химизму образования лимонной кислоты грибами, проведенные под руководством В. С. Буткевича и С. П. Костычева, позволили организовать в 1933 г. первое промышленное производство ее в СССР. Большое значение имели работы по использованию целлюлозного сырья для получения спирта, фурфурола, кормовых дрожжей и других продуктов. В 30-е годы в СССР было организовано производство микробиологическим способом технических препаратов некоторых ферментов и витаминов (эргостерин — провитамин D₂).

Приоритетным достижением было открытие советскими учеными Г. А. Надсоном и Г. С. Филипповым (1925) мутагенного действия рентгеновского излучения на микроорганизмы. С начала 40-х годов в разных странах микроорганизмы стали объектом интенсивных генетических исследований.

Советский микробиолог В. О. Таусон изучил способность микроорганизмов потреблять парафины. Эти работы интенсифицировали исследования по микробиологии нефти, микробиологической очистке сточных вод от нефтепродуктов, по получению белка и других продуктов при выращивании микроорганизмов на углеводородах нефти.

Большое значение в развитии микробиологических производств имела разработка путей получения микробиологическим способом рибофлавина (1935). При этом впервые была использована способность некоторых микроорганизмов к сверхсинтезу продуктов метаболизма.