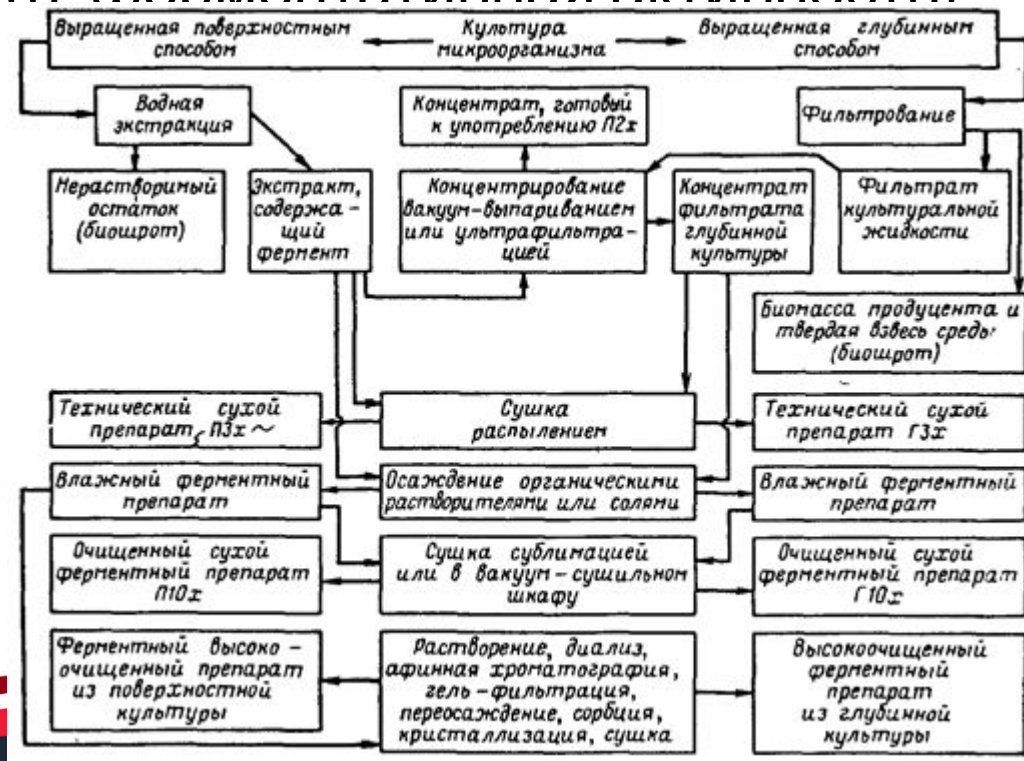


МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ И БИОХИМИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ПРОИЗВОДСТВА

ПНИПУ, гр. БТ-16-16
Сутормина Л.В.
Шегина Е.С.

Контроль производства

Независимо от способа культивирования с момента засева продуцентом стерильной питательной среды ведется контроль за ростом культуры и образованием ферментов. Контроль осуществляется и на каждой следующей стадии получения фермента (чистота, стерильность, ферментативная активность)

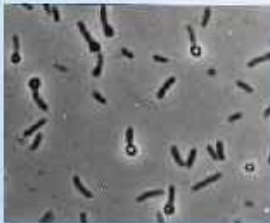


Отбор проб

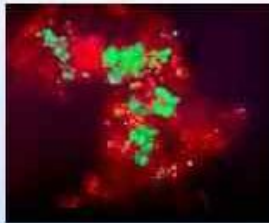
Для каждого вида продуцента и способа культивирования устанавливается своя периодичность отбора проб растущей культуры. Отобранные пробы подвергаются микроскопированию и визуальному просмотру. С целью выявления возможных заражений производится периодический высеv проб на агаризованные среды с введением факторов, подавляющих рост продуцента.



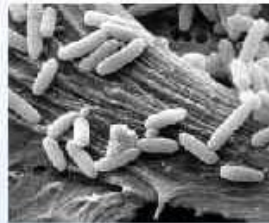
Обычная световая микроскопия



Люминисцентная микроскопия



Сканирующий электронный микроскоп



Просвечивающий электронный микроскоп



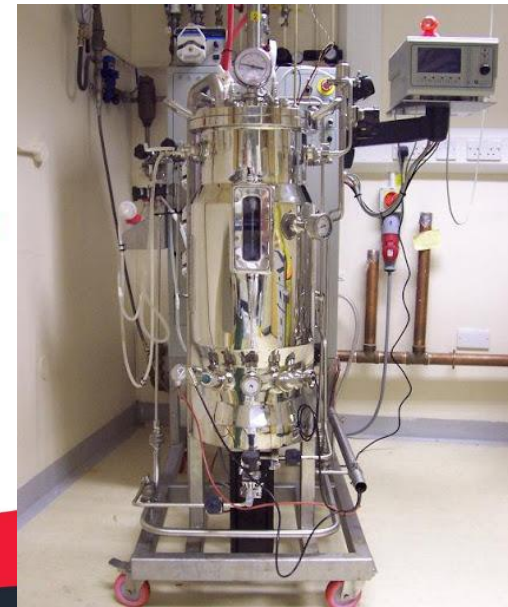
Ферментативная активность

Постоянно ведется определение накопления в культуре ферментативной активности. Для определения ферментативной активности используют следующие методы:

1. Химический метод – количественное определение субстрата или продуктов с помощью химических реагентов (О-гликозилгидролазы – по образованию восстанавливающих сахаров).
2. Спектрофотометрический метод – измерение скорости ферментативной реакции по изменению поглощения субстрата при характеристической длине волны (лиазы – по образованию двойной связи).
3. Манометрический метод – определение количества газа, выделяющегося в процессе реакции (оксидазы – по поглощению O_2 , декарбоксилазы – по выделению CO_2).
4. Поляриметрический метод – фиксируется изменение оптического вращения (β -фруктофуранозидаза).
5. Хроматографический – количественное определение субстрата или продуктов с помощью различных видов хроматографии: бумажной (анализ сахаров), тонкослойной (гликозидов со сложными агликонами), ВЭЖХ (аминокислотный анализ и др.).

Концентрация веществ

При глубинном культивировании ведут контроль за потреблением основных лимитирующих компонентов среды (углеводы, N, P), измеряют pH культуры, постоянно наблюдают температуру процесса и поддерживают необходимую. Для этого существуют специальные датчики и электроды, чтобы отслеживать процесс в реальном времени и не отбирать пробы. Существуют датчики температуры, оптической плотности, pH, pO₂, а также датчики, определяющие концентрацию различных веществ. В ином случае берут пробы, очи



Лабораторный журнал

Все показатели роста культуры, изменения состава среды и накопления ферментов и т. д. заносятся в лабораторный журнал.

Лабораторный журнал – официальный документ, имеющий юридическую силу, в котором в последовательном хронологическом порядке указываются условия проведения экспериментов и результаты измерений. Аккуратное ведение лабораторного журнала позволяет исследователю создать адекватный и поддающийся проверке отчет, защитить свой приоритет относительно сделанных им анализов.

Лабораторный журнал представляет собой тетрадь (журнал) с пронумерованными страницами, прошитыми страницами толстой ниткой, концы которой скреплены на последней странице сургучом с оттиском официальной печати учреждения. Данные следует вписывать ручкой, но не карандашом. Если в процессе занесения в журнал результатов эксперимента были позже обнаружены опечатки или фактические ошибки, они исправляются ручкой другого (красного) цвета, ставится дата и фамилия исправляющего.



Контроль обсемененности

На всех стадиях выделения ферментов проводят анализы активности, определяют величины потерь и выход товарного продукта. Готовые препараты ферментов подвергают тщательному исследованию, особенно те, которые применяются в медицине и в пищевых продуктах. Препараты медицинского назначения не должны содержать микроорганизмов. Препараты для хлебопекарной, мясной и рыбной промышленности контролируют на содержание спор грибов-продуцентов и на присутствие спороносных бактерий. Споры или клетки продуцента в готовом продукте должны отсутствовать, а предельная норма обсемененности микрофлорой определяется в каждом конкретном случае.

Например, в грибных препаратах из поверхностных культур она не должна превышать $1 \cdot 10^5$ клеток на 1 г препарата. При контроле готовых препаратов на обсемененность микроорганизмами делают высевы проб от каждой партии на твердые среды (МПА и сусло-агар) в чашки Петри. Заражение выражается количеством микроорганизмов на 1 г препарата. Контроль на зараженность спороносными бактериями проводится путем посева нагретых до 80 °C проб на чашки Петри с агаризированной средой. Культивирование для выявления бактериального заражения ведут при 37 °C в течение 24 ч, а для грибного — при 20 °C в течение 48—72 ч. Чашки обычно подписывают



Контроль препаратов

- В готовых препаратах определяют влажность и активность в стандартных единицах на 1 г препарата.
- Технические жидкие и сухие ферментные препараты анализируют на активность ферментов, содержание сухого вещества в зависимости от назначения на наличие микробного загрязнения. При контроле высокоочищенных препаратов помимо определения загрязненности микробами и активности ферментов проводятся анализы на содержание белка, зольных элементов, углеводов и других специфических свойств ферментов.

Длительная проверка

Кроме того, любой ферментный препарат перед промышленным производством подвергают длительной проверке в специальных медицинских учреждениях на токсичность, особенно если препарат предназначен для пищевой и медицинской промышленности. Токсичность препарата зависит от способности микроорганизма синтезировать в процессе жизнедеятельности токсины или канцерогенные вещества, а также от состава используемой для культивирования среды и способов выделения фермента. Исследования на токсичность проводят на лабораторных животных, которым вводят внутримышечно и перорально ферментные препараты в различном виде и дозировке и наблюдают реакцию организма.

Проверку ведут в течение нескольких месяцев, а иногда лет на нескольких поколениях животных.



Результаты исследований

Только после тщательного биологического исследования при положительных результатах дается разрешение на промышленное производство препарата и на его применение в пищевой промышленности, медицине, сельском хозяйстве и других областях.



Список литературы

- Мосичев М.С. Общая технология микробиологических производств: Учебное пособие / М.С. Мосичев, А.А. Складнев., В.Б. Котов - М.: Легкая и пищевая промышленность, 1982, - 264 с.
- Грачева И.М. Технология ферментных препаратов : Учебник для студентов высших учебных заведений, обучающихся по специальности "Биотехнология" направления подготовки дипломированных специалистов "Биотехнология" / И. М. Грачева, А. Ю. Кривова. - Изд. 3-е, перераб. и доп. - Москва : Элевар, 2000. - 512 с.