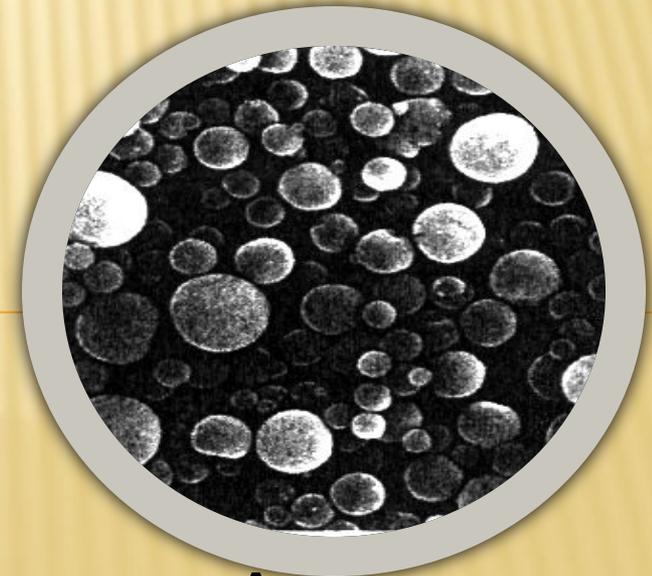
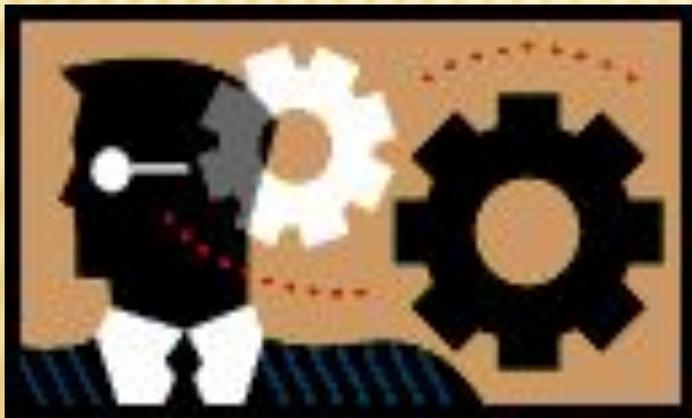


# Основы технологии производства антибиотиков, пробиотиков, ферментов и витаминов



# СОДЕРЖАНИЕ

---

- **1. Производство антибиотиков** (классификация, механизм действия, технология приготовления).
- **2. Технология производства пробиотиков** (лактобактерина, бифидумбактерина, пробиотиков на основе бактерий рода *Bacillus*).
- **3. Технология приготовления ферментных препаратов** (культивирование продуцентов, выделение, концентрирование и консервирование ферментов, применение ферментных препаратов в ветеринарии).
- **4. Технология производства витаминов** - кормового концентрата витамина В<sub>2</sub> (рибофлавин), витамина В<sub>12</sub> (цианкобаламин), витамина Д<sub>2</sub> (эргокальциферол).

# ЛИТЕРАТУРА

- 1. Коновалов С.А. Биосинтез ферментов микроорганизмами.- М.: Высшая школа, 1982.
- 2. Молохова Е.И. Пробиотики – на Российском рынке //Фармация, 2000.- № 3.
- 3. Пассет Б.В., Воробьева В.Я. Технология химико-фармацевтических препаратов и антибиотиков. М.: Медицина. - 1977.
- 4. Самуйленко А.Я., Рубан Е.А. Основы технологии производства ветеринарных биологических препаратов.- М.: Изд. Академии наук РФ.- Т. 1, 2.- 2000.
- 5. Талонов К.П. Процессы и аппараты микробиоло-гических производств. М.: Легкая и пищевая промыш-ленность, 1981.
- 6. Тихонов И.В., Рубан Е.А., Грязнева Т.Н., Самуйленко А.Я., Гаврилов В.А. Биотехнология: учебник /под ред. Воронина Е. С.- Санкт-Петербург: Гиорд.- 2005.- 792 с.

# Антибиотики

- химикотерапевтические препараты природного происхождения или их синтетические аналоги обладающие способностью избирательно убивать или подавлять рост и развитие микроорганизмов. Они являются наиболее эффективными препаратами для лечения заболеваний, вызываемых бактериями.

# ПРИЧИНЫ ПОИСКА НОВЫХ АНТИБИОТИКОВ

---

- Многие антибиотики - незаменимые лечебные препараты при особо опасных инфекционных болезнях.
- Антибиотики - необходимые вещества для сельского хозяйства (лечебные препараты и стимуляторы роста животных).
- Быстрое приобретение микроорганизмами антибиотикоустойчивости ставит задачу замены одних антибиотиков другими.
- Широкое применение антибиотиков в пищевой промышленности в качестве консервантов скоропортящихся продуктов (свежей рыбы, мяса, сыра, овощей).

- Новые антибиотики представляют огромный интерес для специалистов в области химии природных соединений.
- Антибиотики нашли широкое применение в научных исследованиях в качестве веществ, используемых при изучении метаболизма организмов, расшифровки молекулярных механизмов биосинтеза белка, функционирования мембран, как специфические ингибиторы определенных реакций.
- Изучение путей образования антибиотиков способствует глубокому проникновению в механизмы синтетической деятельности этих продуцентов.

# Классификация антибиотиков по различным показателям:

---

## 1. По спектру действия:

- **Антибактериальные**, губительно действующие на грамположительные (бензилпенициллин, ристомицин, новобиоцин), грамотрицательные (полимиксин) бактерии, а также антибиотики широкого спектра действия (левомицетин, канамицин, мономицин, гентамицин);
- **Противогрибковые** (нистатин, леворин, гризеофульвин);
- **Противоопухолевые**, включающие в себя 6 групп: актиномины, антракциклины, оливомицины, брунеомицины, блеомицины, а также такие **интерфероны**, как стоталон и эленин.

## 2. По химической структуре:

- Ациклические (нистатин, канцидин);
- Гетероциклические (гризеофульвин);
- Макроциклические (макролидазы, эритромицины);
- Ароматические (гигромицин);
- Аминогликозидные;
- Полипептазы (грамицидин, олимиксин);
- Пенициллины;
- Актиномицины;
- Стрептомицины.

### 3. По молекулярному механизму действия:

- Антибиотики, действующие на синтез бактериальной клеточной оболочки  
(пенициллины, ристомицин);
- Антибиотики, нарушающие: синтез белков  
(тетрациклины, макролиды, левомицетин);
- синтез белков и порядок генетического кода  
(аминогликозиды);
- синтез нуклеиновых кислот  
(противоопухолевые);
- целостность цитоплазматической мембраны  
(противогрибковые).

### Ингибиторы синтеза клеточной стенки

Пенициллины  
Монобактамы  
Цефалоспорины  
Карбапенемы  
Гликопептиды  
Бацитрацин  
Циклосерин

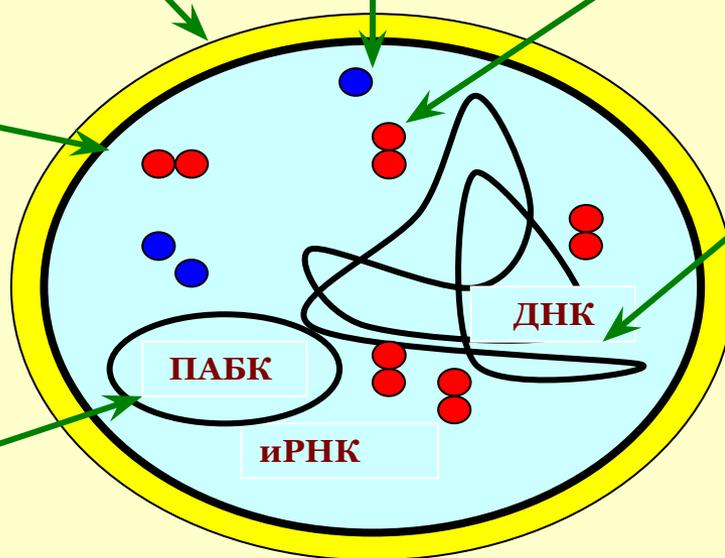
### ИНГИБИТОРЫ СИНТЕЗА БЕЛКА

Ингибиторы 30S-субъединиц рибосом  
Тетрациклины  
Аминогликозиды

Ингибиторы 50S-субъединиц рибосом  
Макролиды  
Хлорамфеникол  
Линкомицин

Ингибиторы функций цитоплазматической мембраны  
Полимиксины

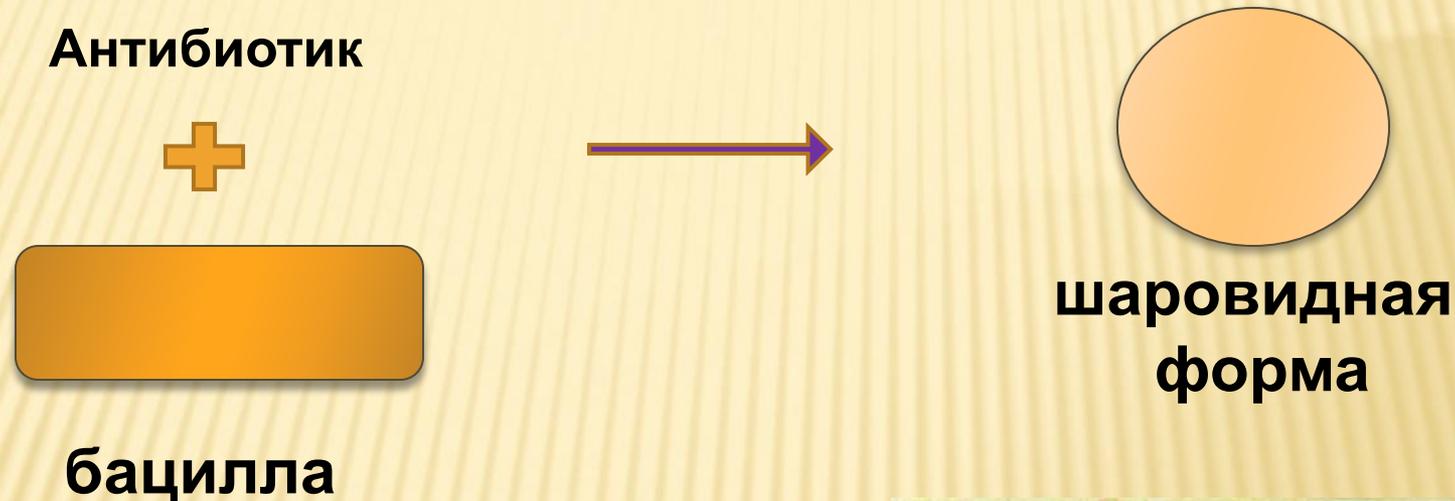
Антиметаболиты (метаболизм фолиевой кислоты)  
Сульфонамиды  
Триметоприм



Ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот  
Рифампицин (ингибитор ДНК-зависимой РНК-полимеразы; нарушение транскрипции)  
Хинолоны (ингибитор ДНК-гиразы; нарушение репликации ДНК)

**Механизм действия антибиотиков на бактерии**

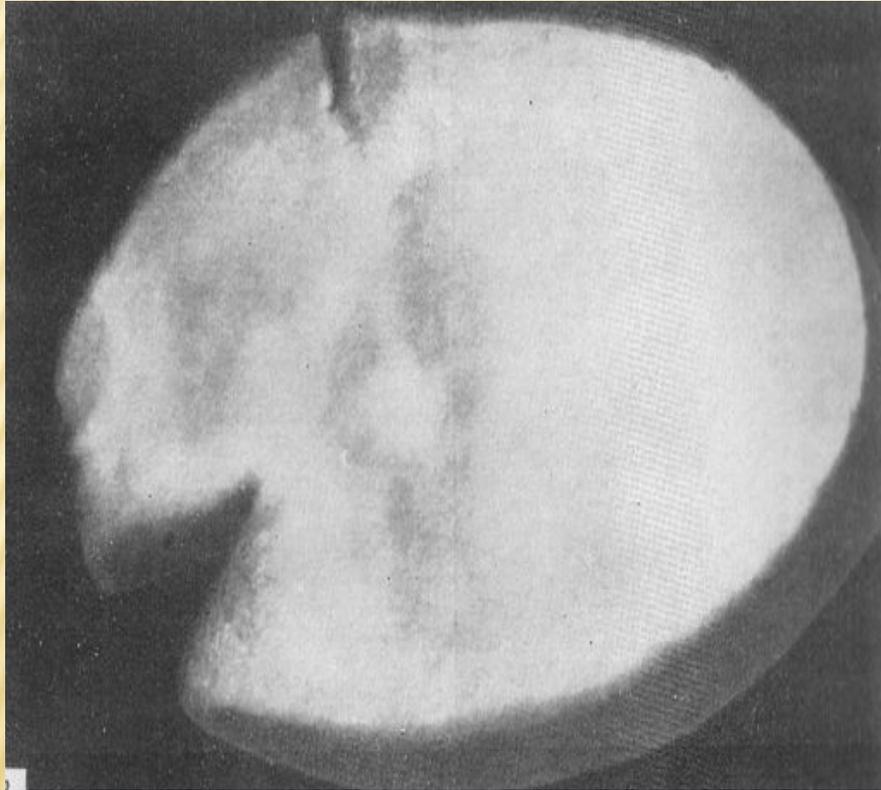
# Воздействие антибиотика на бактерии, приводит к образованию L – формы бактерий.



**«Феномен жемчужного ожерелья» у возбудителя сибирской язвы при выращивании его на питательной среде с пенициллином**



# Воздействие антибиотиков на микроорганизмы



**Воздействие пенициллина на стрептококк**



**Воздействие пенициллина на кишечную палочку**

# Основные этапы поисков антибиотиков:

---

- выделение бактерий-антагонистов из почвы;
- определение антагонистического спектра и активности антибиотиков;
- подбор условий культивирования продуцентов антибиотиков;
- выделение и химическая очистка антибиотиков;
- изучение физико-химических и фармакологических свойств антибиотиков;
- испытание химико-терапевтической эффективности:

# **БИОСИНТЕЗ АНТИБИОТИКОВ**

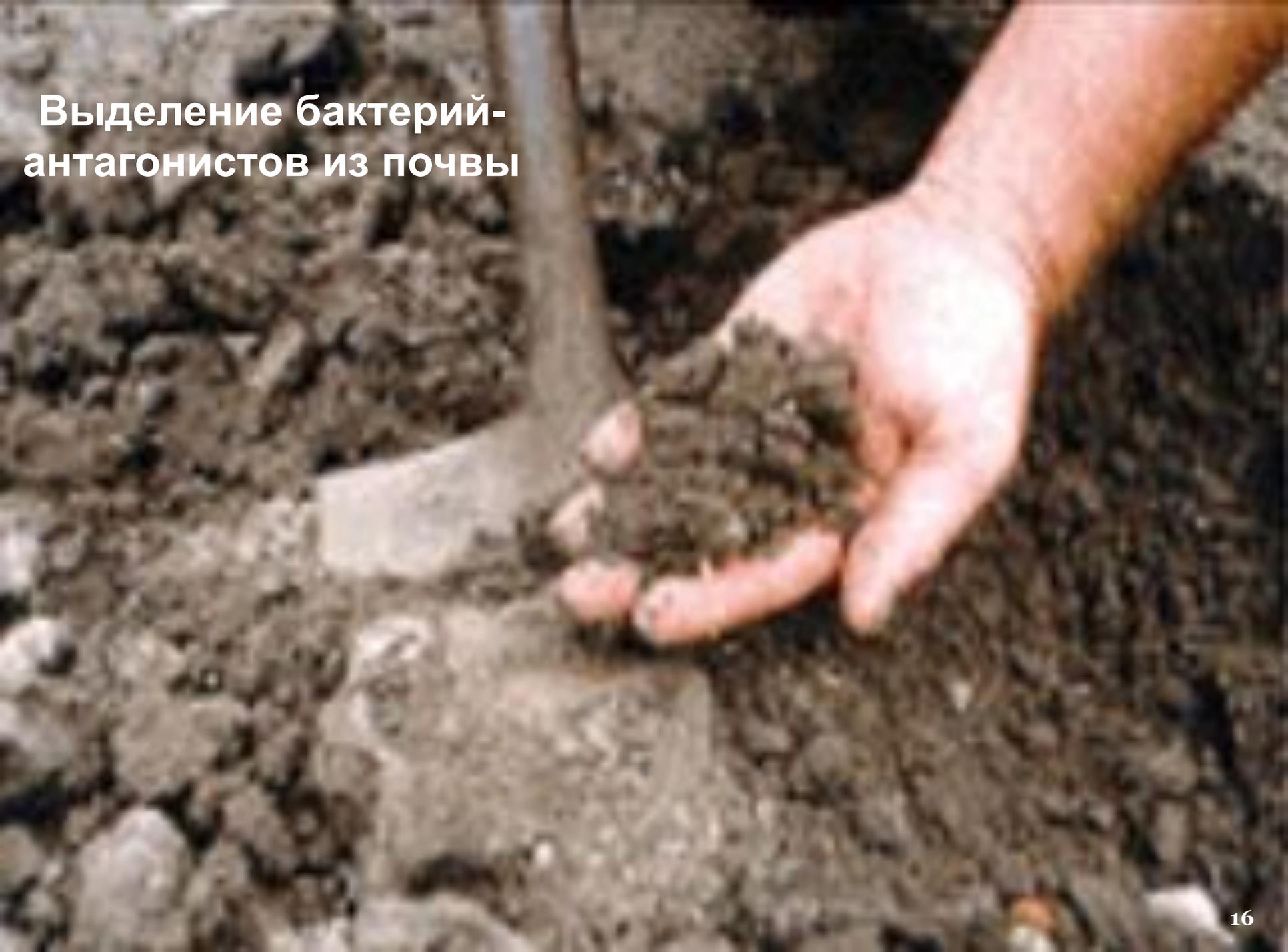
---

**Наследственная особенность организмов, проявляющаяся в том, что каждый вид (штамм) способен образовывать один или несколько вполне определенных, строго специфичных для него антибиотических веществ.**

1. Не все микроорганизмы образуют антибиотические вещества, что, однако, не мешает их широкому распространению в природе.
2. Антибиотические вещества, даже самые устойчивые, довольно быстро инактивируются в почве, в своем естественном местообитании большинства микроорганизмов. Только при максимальном насыщении почвы антибиотиками можно получить соответствующий биологический эффект.



# Выделение бактерий-антагонистов из почвы





**Цех глубинного  
культивирования  
продуцентов антибиотиков  
в биореакторах марки  
БИОР**



**Кружки из фильтрованной бумаги, пропитанной определёнными дозами антибиотиков. Круговые зоны подавления роста тест-бактерий и их диаметр характеризуют степень антибиотико-чувствительности выделенной культуры**

**Биологическая активность антибиотика – это его способность убивать или тормозить рост и развитие микроорганизмов (цидное или статическое действие).**

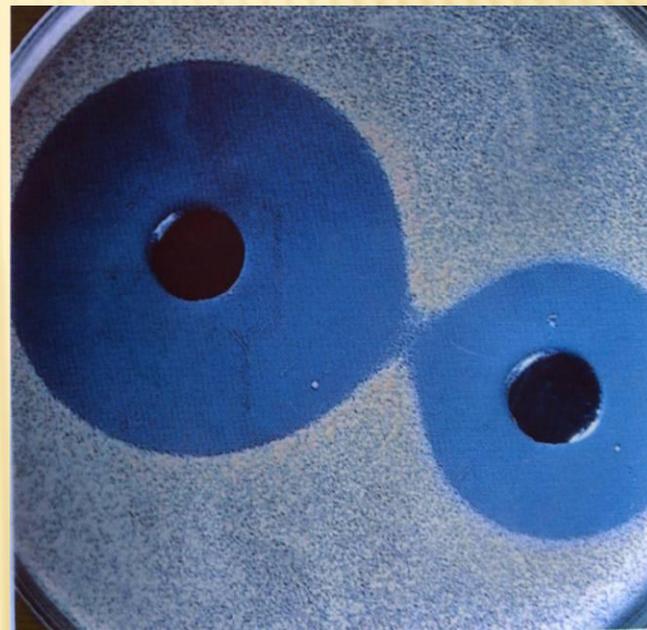
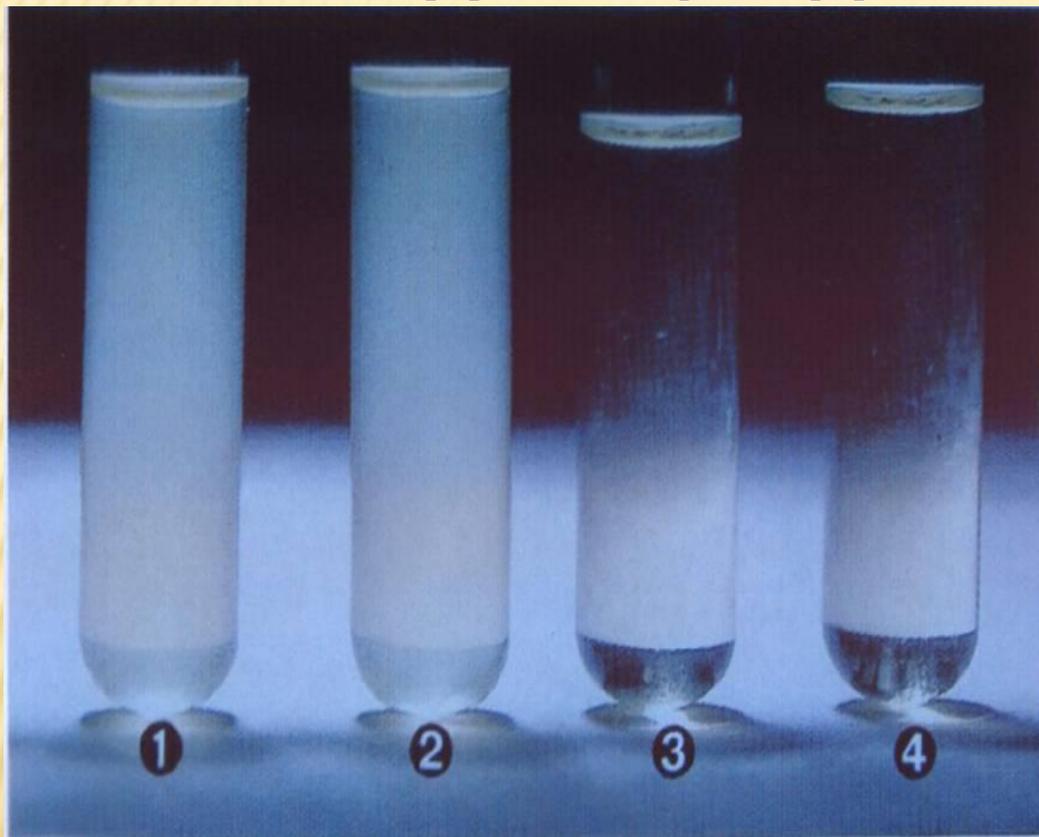
**Единица действия (ЕД) антибиотика – это активность определенного весового количества антибиотика, принятого за эталон.**

## **Методы определения активности антибиотиков**

**Микробиологические  
(метод серийных  
разведений в жидких  
или плотных  
питательных средах;  
метод диффузии в  
агаре)**

**Химические и  
физико-химические  
(колориметрический,  
хроматографический,  
спектрофотометрическ  
ий)**

# Определение активности антибиотика в единицах действия (ЕД)



*ЕД пенициллина - это его минимальная доза, подавляющая рост тест-штамма золотистого стафилококка в 50 мл питательного бульона. Если чистый кристаллический пенициллин задерживает рост золотистого стафилококка в разведении  $1 : 83000000$ , то в 1 г антибиотика содержится  $1666000$  ЕД ( $83000000 : 50 = 1666000$ ) или  $1666$  ЕД в 1 мг.*

**Продуцент  
гентамицина  
*Micromonospora  
purpurea***

Приготовление посевного материала на  
агаризированной питательной среде

Выращивание вегетативного посевного материала в колбах

Выращивание посевного мицелия в биореакторах

Биосинтез гентамицина (культивирование)

Предварительная обработка и ультрафильтрация  
культуральной жидкости гентамицина

Сорбция гентамицина на катионите КБ-2  
в аммонийной форме и десорбция

Получение концентрата гентамицина

Получение осветленного концентрата  
гентамицина и перевод его в сульфатную форму

Распылительная сушка водных растворов гентамицина

Фасовка, упаковка и маркировка

Контроль

**Схема  
получения  
гентамицина  
сульфата**

# **Пробиотики** – это

биопрепараты, которые содержат живые, антагонистически активные в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов «полезные» бактерии (лактобациллы, бифидобактерии и др.), применяемые для профилактики и лечения инфекционных (в основном, желудочно-кишечных) болезней человека и животных.



# Основные характеристики пробиотических препаратов

1. Выживать при пассивации через желудочный тракт;
2. Адгезироваться на эпителиальных клетках кишечника;
3. Стабилизировать кишечную микрофлору;
4. Не иметь признаков патогенности;
5. Сохранять жизнеспособность;
6. Быстро размножаться, колонизируя кишечный тракт;
7. Существовать в организме с проявлением родовых свойств пробиотиков.

# Возможные механизмы действия пробиотиков

## 1. Подавление живых патогенных и условно-патогенных микроорганизмов

- а) продукция антибактериальных веществ - бактериоцинов;
- б) конкуренция за источники питания;
- в) конкуренция за рецепторы адгезии.

## 2. Влияние на микробный антагонизм

- а) уменьшение ферментативной активности;
- б) увеличение ферментативной активности.

## 3. Стимуляция иммунитета

- а) увеличение уровня антител;
- б) увеличение активности макрофагов.

# Пробиотики на основе лакто- и бифидобактерий

Используемые лакто- и Бифидобактерии	Препараты
<p><i>B.bifidum</i>, <i>B.infantis</i>, <i>B.longum</i>, <i>B.breve</i>, <i>B.adolescentis</i>, <i>B.lactis</i>, <i>B.animals</i></p>	<p>бифидумбактерин сухой, бифидумбактерин форте, бифилиз, бифилин</p>
<p><i>L.acidophilus</i>, <i>L.plantarum</i>, <i>L.casei</i> spp. <i>rhamnosus</i>, <i>L.brevis</i>, <i>L.delbrueckii</i> spp. <i>bulgaricus</i>, <i>L.helveticus</i>, <i>L.femientum</i>, <i>L.lactis</i></p>	<p>Лактобактерин, ацилакт, аципол, витафлор, колибактерин сухой</p>

# Пробиотики на основе спорообразующих бактерий

## Используемы спорообразующие бактерии

## Препараты

**Bacillus subtilis, шт. 3Н**

**Бактиспорин**

**Bacillus subtilis шт. ВКПМ-В2335**

**и B. licheniformis, шт. ВКПМ В2336**

**Биоспорин**

**Bacillus subtilis, шт. ВКПМ-7092**

**Ветом 1.1**

**B. subtilis, шт. ВКПМ-7092**

**Ветом 1.29**

**B. subtilis, шт. ВКПМ В 7048 и**

**B. licheniformis, шт. ВКПМ В 7038**

**Ветом 2**

**B. subtilis, шт. ВКПМ В 7048**

**Ветом 3**

**B. licheniformis, шт. ВКПМ В 7038**

**Ветом 4**

**B. subtilis, шт. ВКПМ-7092**

**Ветоцил**

**B. subtilis, шт. ВКПМ-7092**

**Коредон**

**Bacillus subtilis 11В ВКМ В-2218Д**

**Витаспорин**

**B. licheniformis, ВКПМ В-7038**

**Биосептин**

**B. subtilis**

**Биокорм Пионер**



# БАКТИСТАТИН

пробиотический комплекс нового поколения

**ФУГАТ**  
***B. subtilis***  
пробиотическая  
составляющая

**ЦЕОЛИТ**  
природный  
минерал  
алюмосиликат

**ГИДРОЛИЗАТ**  
**СОЕВОЙ**  
**МУКИ**  
пребиотическая  
составляющая

**АЭРОСИЛ**  
технологическая  
составляющая



нормализация кишечного биоценоза



1. Препараты из монокультуры живых микроорганизмов (бактисубтил, бифинорм, лактобактерин, бифидобактерин).
2. Препараты, содержащие комплекс живых микроорганизмов (бификол, иммунобак, бифилак, Биод-5).
3. Препараты из монокультур или комплекса микроорганизмов, включая субстанции, стимулирующие их приживание, рост и размножение (лактобифидол, стрептофид, бактистатин, КД-5).
4. Препараты из генетически модифицированных штаммов микроорганизмов (ветом -1.1, субалин).
5. Препараты, содержащие помимо микроорганизмов или средств, стимулирующих их рост и размножение, другие соединения, влияющие на функции клеток органов и тканей животного (целлобактерин).

# Микроорганизмы, используемые при производстве молочнокислых продуктов

## **Молочнокислые стрептококки**

```
graph TD; A[Молочнокислые стрептококки] --> B["S. cremoris (сливочный стрептококк). Развивается при 30 град. С. Предельная кислотность сквашивания 100-120 Т. Придаёт сгустку сметанообразную консистенцию, образует молочную кислоту, летучие кислоты."]; A --> C["S. thermophilus. Развивается при 40-45 град. С. Участвует в образовании МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ"]; style A fill:#f96,stroke:#333,stroke-width:1px; style B fill:#f96,stroke:#333,stroke-width:1px; style C fill:#f96,stroke:#333,stroke-width:1px;
```

**S. cremoris (сливочный стрептококк). Развивается при 30 град. С. Предельная кислотность сквашивания 100-120 Т. Придаёт сгустку сметанообразную консистенцию, образует молочную кислоту, летучие кислоты.**

**S. thermophilus. Развивается при 40-45 град. С. Участвует в образовании МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ**

# Ароматизирующие стрептококки



**S. citrovorus, S. paracitrovomus, S. lactis subsp. acetoinicus, S. Diacetilactis, S. lactis subsp. diacetilactis**

**Развиваются при 25-30 град. С. Предельная кислотность сбраживания 80-120Т. Образуют молочную кислоту, углекислый газ, спирты, ароматические вещества (эфирьы, диацетил), придающие продукту специфический запах и определённую консистенцию. Участвуют в биосинтезе витаминов, аминокислот, углеродсодержащих полимеров.**

## **Молочнокислые палочки**



**Lactobacillus bulgaricus (болгарская палочка),  
Lactobacillus acidophilus (ацидофильная палочка)**

Развиваются при 40-45 град. С. Предельная кислотность 200-300 Т. Сбраживают глюкозу, галактозу, лактозу. Слизистые расы образуют глюкопротеины – муцины, придающие продукту слизистую консистенцию и низкую кислотность; неслизистые расы – высокую кислотность.

## **Чистые культуры дрожжей**



**Saccharomyces kefir**

Участвуют в спиртовом брожении, придают продукту острый вкус, пенистую консистенцию, своеобразный аромат.

# Производство пробиотиков



# Питательные среды для молочнокислых бактерий

1. Стерильное обезжиренное молоко.
2. Гидролизованное молоко.



# Схема производства бифидумбактерина

Приготовление питательной среды ( среда Блаурокка, гидролизатно-молочная или гидролизатно-дрожжевая)

Выращивание посевного материала I и II генерации

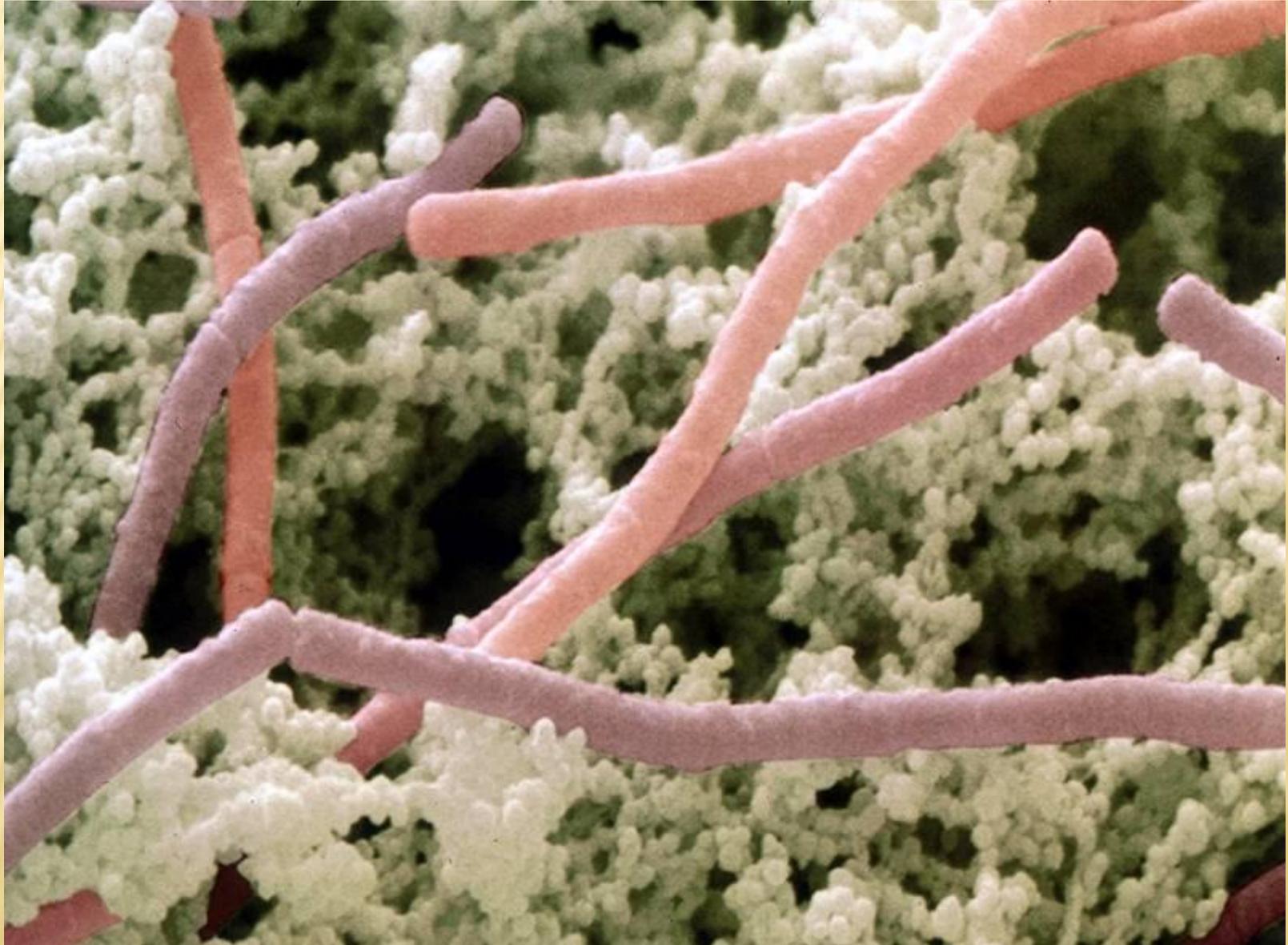
Культивирование в биореакторах

Сублимационное высушивание

Маркировка, упаковка

Контроль готового препарата

# Лактобактерии в сквашенном молоке



# СХЕМА ПРОИЗВОДСТВА ЛАКТОБАКТЕРИНА

Приготовление  
питательной среды

Подготовка посевного  
материала

Культивирование микроорганизмов (2 суток)

Выделение и концентрирование лактобактерий

Лиофильное высушивание

Придание готовой лекарственной формы

Фасовка, упаковка, этикетирование

Контроль готовой продукции

**Биод-5** – пробиотик нового поколения, разработанный на основе ассоциации двух штаммов аэробных непатогенных спорообразующих бактерий *B.subtilis* ТПИ 13 и *B.licheniformis* ТПИ 11.





**Ф е р м е н т ы** – это органические вещества белковой природы, которые синтезируются в клетках и во много раз ускоряют протекающие в них реакции, не подвергаясь при этом химическим превращениям.

**Ферменты** (от латинского **fermentum** - брожение, закваска) иногда называют **энзимами** (от греческого **en** - внутри, **zyme** - закваска).

# Все источники ферментов делят на 3 основные группы:

- 1. Ткани животных** как отход мясоперерабатывающей промышленности. Прежде всего, это богатые ферментами поджелудочная железа и слизистая оболочка желудка.
- 2. Некоторые растения.** Например, такие ферменты, как папаин и фицин, извлекают соответственно из сока дынного и инжирного дерева. Из ячменя можно получить амилазу.
- 3. Микроорганизмы.** *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Penicillium*, бактерии рода *Bacillus*, дрожжи рода *Saccharomyces*

# Три вида посевного материала микроорганизмов - продуцентов ферментов

1. В виде культуры гриба
2. В виде мицелия
3. В виде спор

## **Субстраты, используемые при культивировании продуцентов ферментов (на твердых питательных средах)**

- 1. Пшеничные отруби ( 20-25% крахмала, 12% белков, 10-15% клетчатка, 13% влаги)**
- 2. Свекловичный жом (20-30% клетчатки)**
- 3. Солодовые ростки – корешки проросшего ячменя ( витамины и аминокислоты)**
- 4. Древесные опилки – разрыхлитель**
- 5. Шелуха сельскохозяйственных культур (рис, гречиха, подсолнух)**

# Схема получения посевного материала в виде культуры гриба

Получение маточной культуры в пробирках на  
косяках

Выращивание посевного материала в колбах  
малого размера на отрубях

Выращивание культуры гриба на отрубях в  
посевных кюветах

Выращивание культуры гриба на отрубях в  
производственных кюветах

# Схема получения посевного материала в виде мицелия

Получение маточной культуры в пробирках на  
косяках



Выращивание культуры в колбах на 250 мл на  
тонком слое отрубей



Выращивание культуры в колбах на 4 – 8 л  
качалке с жидкой питательной средой

# Получение посевного материала в виде спор

- Выращивание посевного материала (мицелий со спорами)
- Измельчение
- Отделение под действием потока воздуха



Технология переработки культуральной жидкости при производстве ферментов

# Применение ферментных препаратов в ветеринарии

**Пероксидаза** – в иммуноферментном анализе (ИФА) при диагностике инфекционных болезней.

**Уреаза** – определение мочевины в крови, моче, тканях.

**L-аминоксидаза, D-аминоксидаза, декарбоксилаза, дегидрогеназа, лиаза, трансфераза** и др. - определение отдельных аминокислот.

**Глюкозооксидаза, гексокиназа** - определение глюкозы.

**Инвертаза, лактаза** – определение сахарозы.

**Профезим (протосубтилин)** - для лечения острых гнойно-некротических процессов, гнойных ран, абсцессов и флегмон, послеоперационных осложнений, некротических пододермитов, некробактериоза в стадии изъязвления, ожогов.

**Террилин** - для лечения гнойных ран, ожогов, трофических язв, пролежней, воспалительных заболеваний верхних дыхательных путей (трахеита, бронхита, пневмонии, абсцесса легких).

**Терридеказа** - для лечения гнойных ран.

**Ируксол (коллагеназа с хлорамфениколом)** – для безболезненного очищения раны от некротизированных тканей.

**Биосептин** - антибактериальный и противовирусный препарат для наружного применения.

**Лизоамидаза (мурамидаза, амидаза, пептидаза, протеиназа, фосфатаза)** - для лечения болезней, вызванных стрептококками и стафилококками.

**- это низкомолекулярные органические соединения, присутствующие в живых клетках в низких концентрациях и являющиеся компонентами энзиматических систем, ответственных за различные биохимические реакции.**

# Производство витаминов

```
graph TD; A[Производство витаминов] --> B[Экстракция витаминных препаратов из растительного или животного сырья]; A --> C[Химический синтез витаминов]; A --> D[Биосинтез витаминов];
```

Экстракция витаминных препаратов из растительного или животного сырья

Химический синтез витаминов

Биосинтез витаминов

Витамины, выпускаемые в РФ путем микробного синтеза: кормовой концентрат витамина В<sub>2</sub> (рибофлавин); витамин В<sub>12</sub> (цианкобаламин); кормовой концентрат витамина В<sub>12</sub> (КМБ-12); витамин Д<sub>2</sub> (эргокальциферол); β-каротин.

## Состав и количество витаминов в биомассе дрожжей

Витамин	Количество, мг/кг
Тиамин (В <sub>1</sub> )	15 - 18
Рибофлавин (В <sub>2</sub> )	45 - 68
Биотин	1,6 - 3,0
Инозит	400 - 5000
Фолиевая кислота	3,4 - 21,5
Никотиновая кислота	440 - 610

## Микроорганизмы – продуценты рибофлавина

Микроорганизм	Выход витамина мг%
<i>Clostridium acetobytylicum</i>	97
<i>Mycobakterium smegmatis</i>	58
<i>Mycocandida riboflavina</i>	200
<i>Candida flaveri</i>	567
<i>Eremothecium ashbyii</i>	2480-6000
<i>Ashbyii gossipii</i>	6420

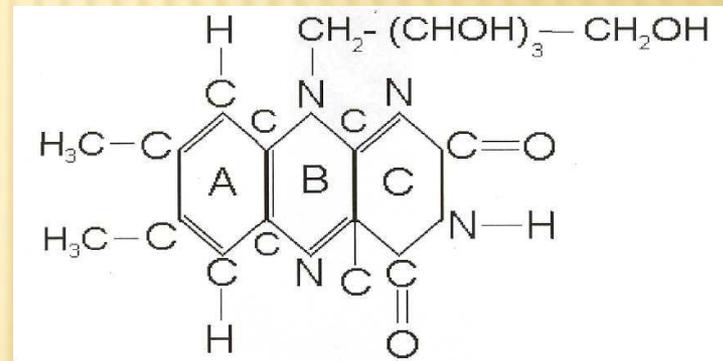
1. Аэробная ферментация.
2. Термолиз и концентрирование.
3. Сушка, размол, гранулирование, упаковка.

Производство рибофлавина состоит из трех основных стадий:



1. Компрессор воздуха
2. Маслоотделитель
3. Ресивер
4. Фильтр головной
5. Инокулятор
6. Смеситель

## Технологическая схема производства кормового концентрата рибофлавина с помощью гриба *Ermothecium ashbyii*

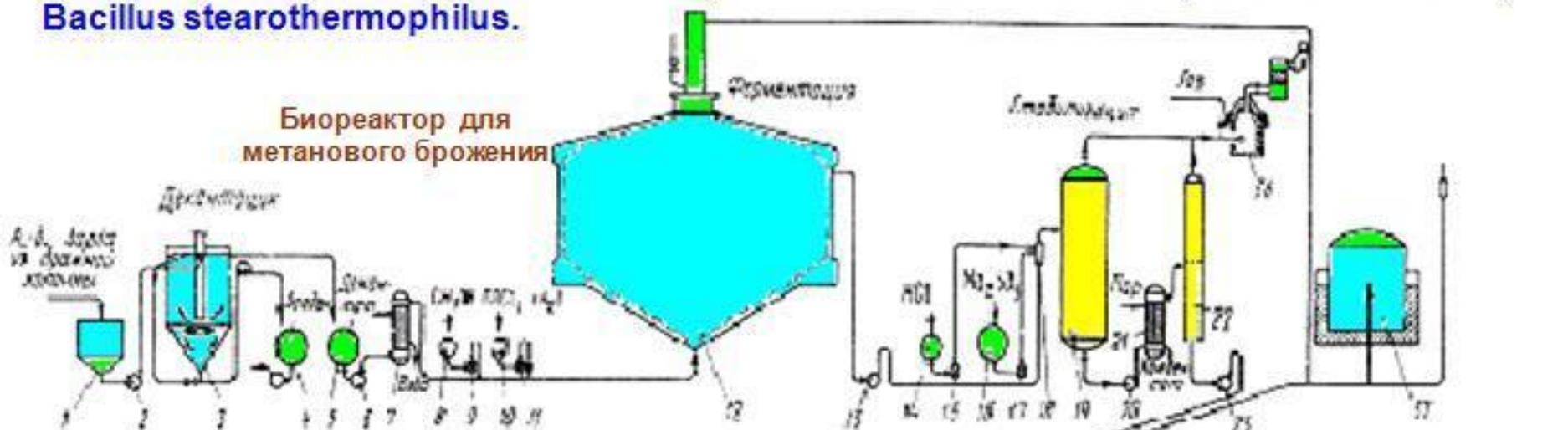


7. Биореактор
8. Инокулятор
9. Сборник культуральной жидкости
10. Выпарной аппарат
11. Распылительная сушилка
12. Дробилка

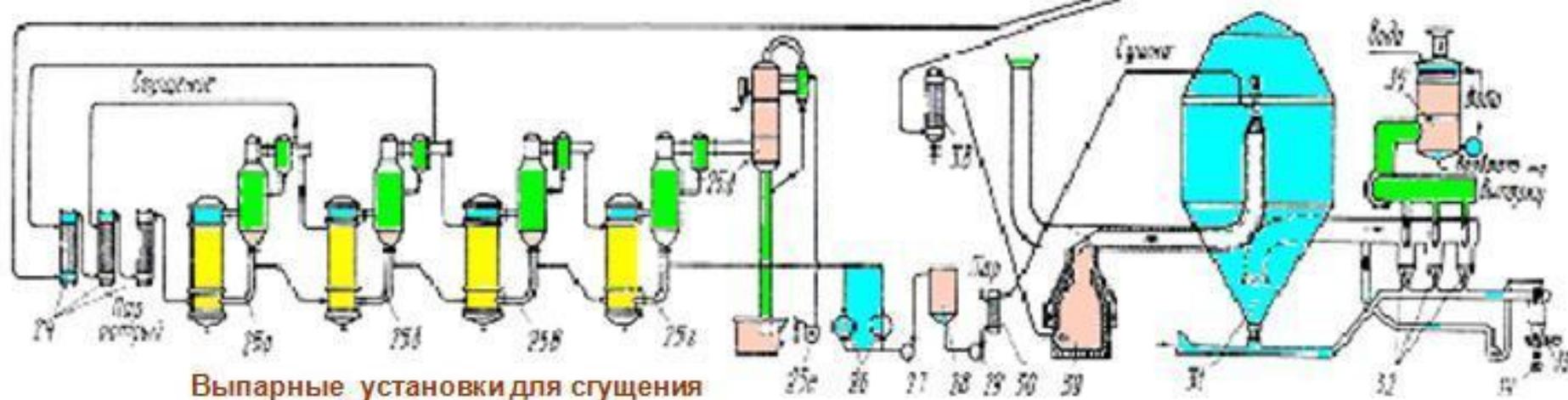
# Технологическая схема получения концентрата витамина В<sub>12</sub>

Продуценты витамина В<sub>12</sub> - Метанобразующие (*Methanococcus vacuolita*, *Methanosarcina barkeri*, *Methanosarcina halophilus*) и пропионовокислые бактерии (*Propionibacterium shermanii* M-82), *Nocardia rugosa*, *Micromonospora*, ацетогенные клостридии (*C. thermoaceticum*, *C. formicoaceticum* и *Acetobacter woodi*), *Pseudomonas denitrificans*, *Bacillus circulans*, *Bacillus stearothermophilus*.

Биореактор для метанового брожения

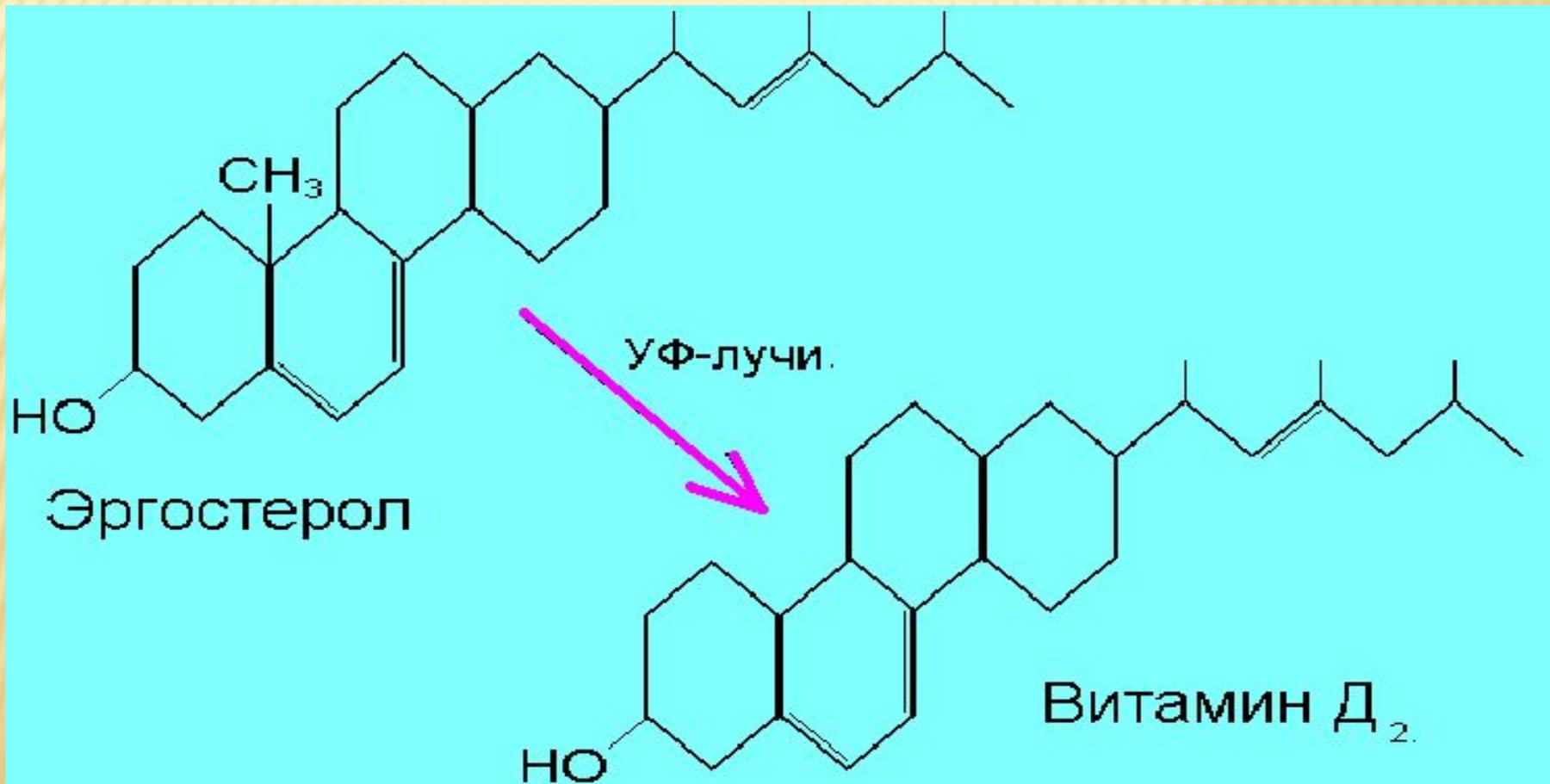


Выпарные установки для сущения метановой бражки



Распылительная сушилка

**Фотохимическое превращение предшественников витамина Д в эргокальциферол (при обработке дрожжевой суспензии или сухих дрожжей ультрафиолетовыми лучами)**



# Содержание эргостерина у микроорганизмов

Микроорганизмы	Количество эргостерина, %
<i>Saccharomyces carlbergensis</i>	0,49-4,3
<i>Saccharomyces ellipsoides</i>	1,2-1,5
<i>Rhodotorula glutinis</i>	0,7-0,9
<i>Candida utilis</i>	0,4-0,6
<i>Candida tropicalis</i>	0,2-0,3
<i>Aspergillus</i>	1,2-1,4
<i>Penicillium Westlingii</i>	2,2

# Заключение

**Рассмотренные выше продукты микробиологической промышленности для сельскохозяйственных производств играют важную роль в интенсификации животноводства и птицеводства, увеличения объемов производства и улучшения технико-экономических показателей продукции сельского хозяйства.**