

# Немного истории..

...с 1830 года



Барон Шарль Каньяр де Ла-Тур

Луи Пастер



Теодор Шванн

# КЛАССИФИКАЦИЯ ПРОЦЕССОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

- 1) состоянию питательной среды (поверхностные и глубинные);
- 2) наличию или отсутствию перемешивания (динамические или статические);
- 3) содержанию кислорода (аэробные или анаэробные);
- 4) способу действия (закрытые, чаще периодические, и открытые, чаще непрерывные);
- 5) количеству ферментеров (одно-, дву- и многостадийные);
- 6) способу управления (хемотратные, турбидостатные, оксигеностатные, рН-статные и другие).

Также культуры микроорганизмов можно подразделять на открытые и закрытые системы



# Получение накопительных и чистых культур

**Получение накопительных культур** – основной этап процесса получения чистых культур.

К физическим методам относят:

- регуляцию роста температурой
- тепловую и ультразвуковую обработку
- УФ-облучение

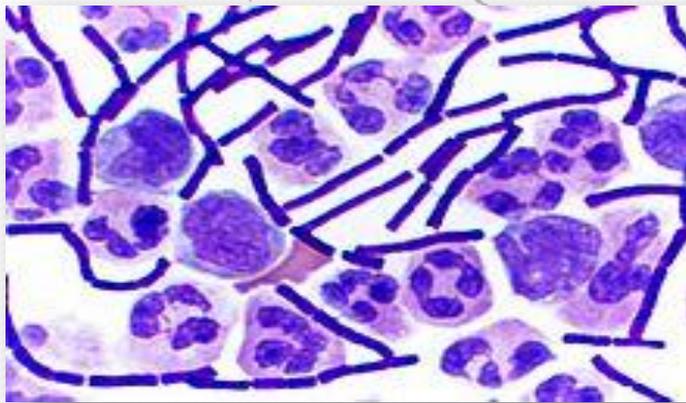
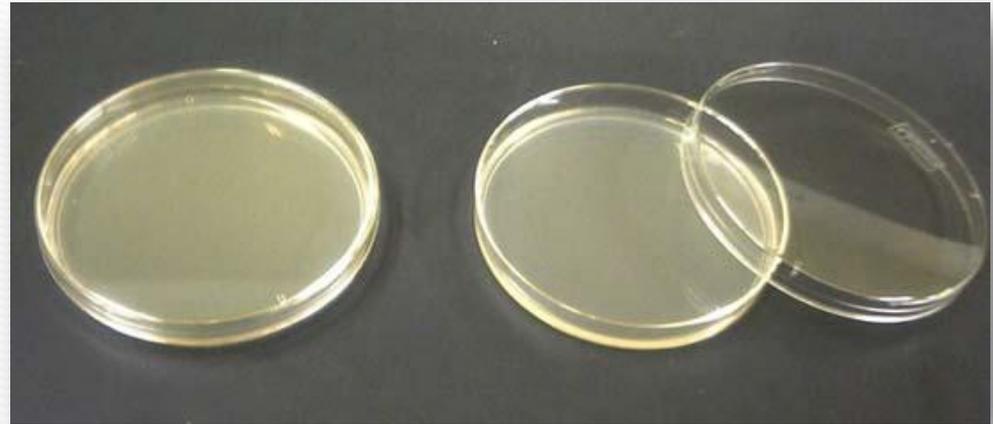
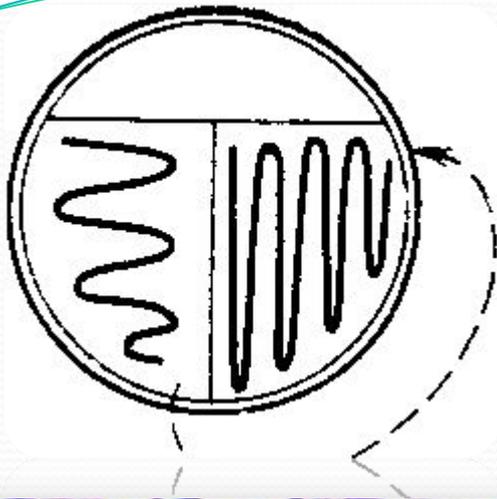
К химическим методам относят:

- использование токсичных веществ

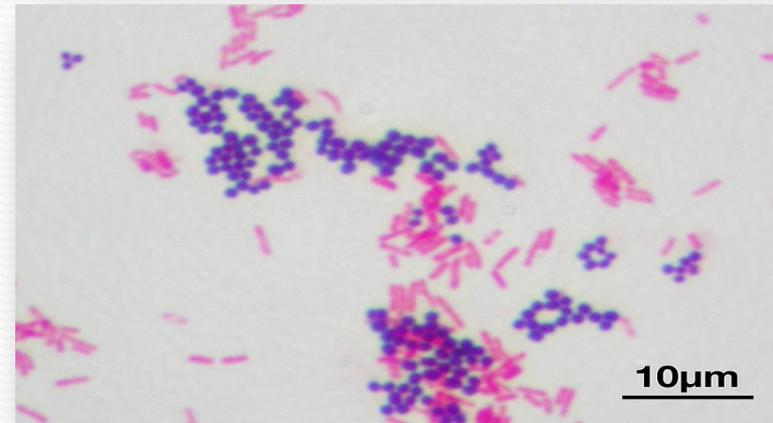
К биологическим методам относят:

- использование специфических хозяев для выделяемого организма





Грамположительная *Bacillus anthracis* (фиолетовые палочки) в образце спинномозговой жидкости. (Другие клетки — лейкоциты).



Окраска по Граму *Staphylococcus aureus* (грамположительные кокки) и *Escherichia coli* (грамотрицательные бациллы)

# Методы культивирования на



## твердых средах



- 1. В случае культур, выращенных на твердой среде, нет необходимости использовать центрифугу или другие средства для сбора клеток, поскольку в этих культурах клетки находятся уже в сконцентрированном состоянии.

- 2. Твердые культуры относительно свободны от макромолекулярных компонентов и полностью свободны от частиц питательной среды, так как последние обычно находятся внутри агарового геля.

- 3. На твердых средах можно получать результаты, которые невозможно достичь другим путем.

1. Твердая культура имеет ограничения при выращивании больших количеств биомассы.
2. Твердые культуры не обеспечивают однородность популяции клеток, т. е. культура гетерогенна в физиологическом отношении.
3. Твердые культуры характеризуются небольшим числом клеток в пересчете на данное количество среды.

# Простейшая классификация процессов суспензионного или глубинного культивирования

- 1) периодическое культивирование;
- 2) продленное оптимизированное периодическое культивирование с подпиткой или без нее;
- 4) многоциклическое культивирование;
- 5) полунепрерывное культивирование;
- 6) непрерывно-синхронное культивирование;
- 7) непрерывное культивирование

# ПРОЦЕССЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

## ПЕРИОДИЧЕСКИЕ

## НЕПРЕРЫВНО-ПРОТОЧНЫЕ

### Статические

### Динамические с перемешиванием при помощи:

### Продленные

### Полного смешения (хемостаты)

### Полного вытеснения

### Насадочные с иммобилизованными клетками

на плотной среде

на жидкой среде

качалки

барботажа

мешалки

диализ

подпитка

одностадийные

многостадийные

отъемно-доливные

регулирование по схеме хемостата

регулирование по схеме турбидостата рН-стата

многостадийные

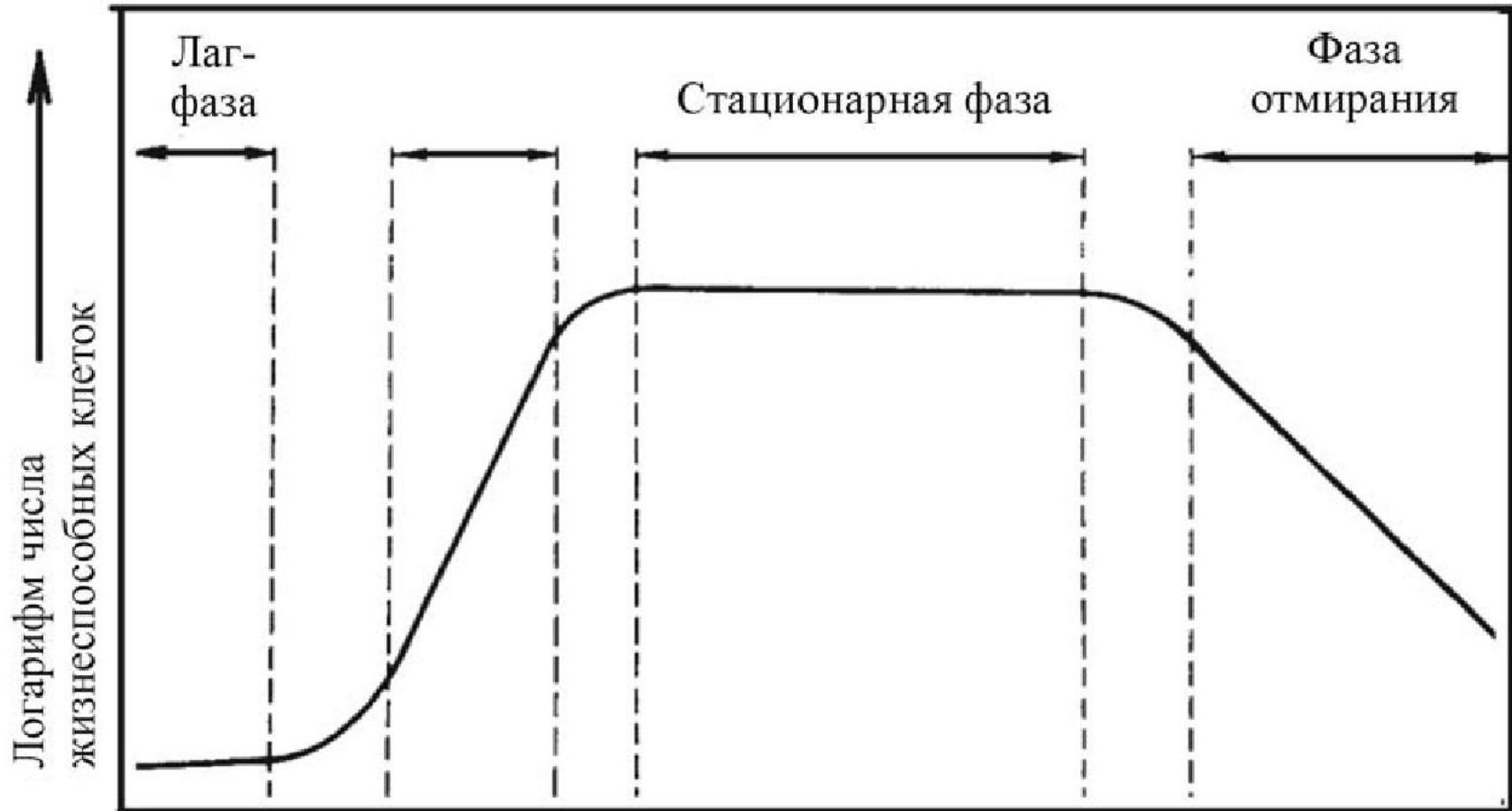
одностадийные

с рециркуляцией

трубчатый ферментер

колонка с наполнителем

# Основные фазы кривой роста периодической культуры микроорганизмов



# Глубинное периодическое культивирование



Ферментер



# Продленное периодическое культивирование

- Характерные черты:
- - предусматривает одноразовую загрузку и разгрузку ферментера;
- - продлевается как экспоненциальная фаза, так и фаза линейного роста;
- - подпитка переводит периодический процесс в продленный периодический процесс;
- Для увеличения выхода продуктов или с целью повышения биомассы применяют процессы  
диализа

# Многоциклическое культивирование

- Это такие процессы, в которых цикл выращивания культуры повторяется многократно без многократной стерилизации емкости.
- **Применяют** как для получения биомассы, так и продуктов микробного синтеза – токсинов, антибиотиков, внеклеточных ферментов, аминокислот.

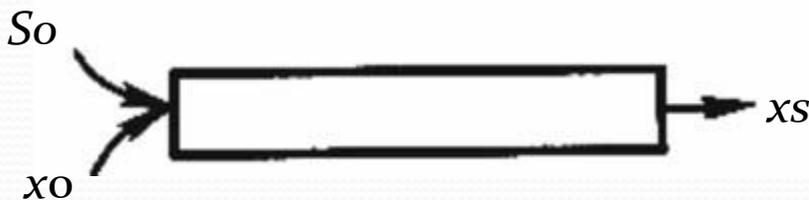


# Гомогенные системы идеального смешивания

- В этой системе микроорганизмы растут в культуральной среде, постоянной по своему составу и находятся в состоянии установившегося динамического равновесия.
- По количеству ферментов могут быть:
  - одностадийные;
  - двухстадийные;
  - многостадийные;
- Основным аппаратом для выращивания непрерывной гомогенной культуры – ферментер.

# Культивирование полного вытеснения

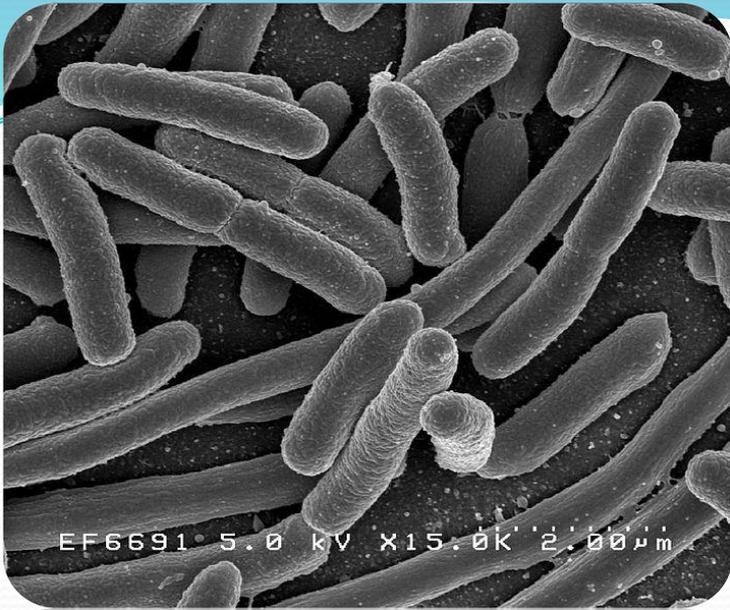
Этот способ культивирования используется для анаэробных условий. Открытая система полного вытеснения отличается от системы идеального смешения тем, что культура в ней не перемешивается и представляет собой поток жидкости через трубку. Наиболее распространенным аппаратом является трубчатый реактор



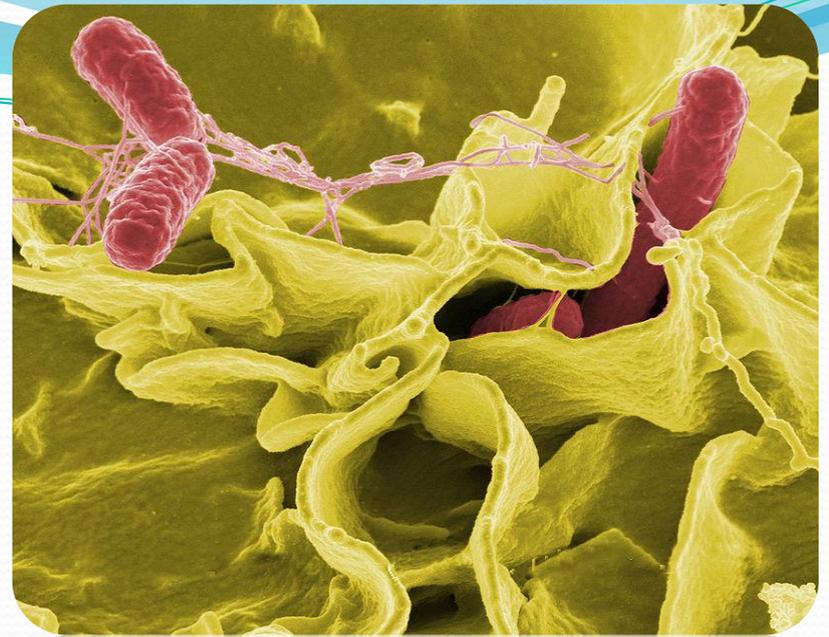
Трубчатый ферментер полного вытеснения:  $S_0$  – концентрация субстрата в поступающей среде;  $X_0$  – начальная концентрация биомассы;

# Синхронно делящиеся культуры

- Сущность метода синхронизации заключается в том, что путем различных воздействий микробная популяция искусственно приводится в однородное физиологическое состояние. Наиболее легко определяемым показателем такого состояния популяции является одновременное (синхронное) деление почти всех клеток культуры.
- Среди бактерий синхронное размножение изучалось главным образом на популяциях *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Corynebacterium diphtheriae* и других.



**Escherichia coli**



**Salmonella sp.**



**Corynebacterium diphtheriae**

# Периодическое синхронное культивирование

Для определения степени синхронизации наибольшее распространение получил «индекс синхронизации» Шербаума ( $I_s$ ), вычисляемый по формуле:

$$I_s = (N_1/N_0 - 1) \cdot (1 - T/g)$$

$N_0$  – число клеток непосредственно перед взрывом синхронного деления;

$N_1$  – число клеток после синхронного деления;

$T$  – время, в течение которого происходит синхронное деление;

$g$  – продолжительность одной генерации.

# В зависимости от характера воздействия

- ➔ механический отбор (селективные методы)
- ➔ действие физических факторов
- ➔ химико-биологические воздействия.

# Непрерывно-синхронное культивирование

- Этот способ известен как непрерывно синхронный, или фазовый, метод культивирования, гарантирующий поддержание синхронного деления клеток неограниченно долгое время. Метод основан на периодическом сливе из ферментера половины объема выросшей культуры через промежутки времени, равные одной генерации, и одновременном добавлении такого же количества свежей питательной среды, что обеспечивает импульсную подачу источников питания.

|         |            |    |
|---------|------------|----|
| 5       | <b>C</b>   | 6  |
|         | 12,011     |    |
|         | $2s^22p^2$ |    |
| 4       | Углерод    | 2  |
| 13      | <b>Si</b>  | 14 |
| 28,0855 |            |    |

