

# ПОЛУЧЕНИЕ ПЕРВИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ

## ПОЛУЧЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ

***Первичные метаболиты (primary metabolite)***  
[греч. *Metabole* — перемена] –  
низкомолекулярные соединения (молекулярная  
масса 2-3 кДа), необходимые для  
жизнедеятельности клетки. К ним относятся  
пуриновые и пиримидиновые основания  
(нуклеотиды), аминокислоты, сахара,  
органические кислоты, витамины. Эти вещества  
участвуют в основном обмене веществ,  
являются коферментами (НАД, НАДФ, ФАД,  
ФМН), строительными блоками для более  
сложных соединений (высокомолекулярных).

# ПОЛУЧЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ

используют в кормопроизводстве (60%)	Изолейцин, лейцин, лизин, метионин, треонин, триптофан, валин, фенилаланин, гистидин, аргинин, пролин
в пищевой промышленности (30%)	Цистеин, глицин, глутаминовая кислота
применяют в медицине	Аргинин, аспарат, цистеин, фенилаланин и др.
используют в химической и фармацевтической промышленности	предшественники для производства детергентов, полиаминокислот, полиуретана и препаратов для сельского хозяйства

# ПОЛУЧЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ

Получение аминокислот возможно  
несколькими путями:

D-изомеры  
токсичны!

- 1. химический синтез** (образуется рацемат),
- 2. гидролиз природного белкового сырья** (многоступенчатая и дорогостоящая очистка),
- 3. в биотехнологических процессах** (прямая микробная ферментация, микробиологический или ферментативный синтез из предшественников).

# ПОЛУЧЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ

- **Микробиологический метод** получения аминокислот основан на способности микроорганизмов синтезировать все L-аминокислоты (мг), а в определенных условиях – обеспечивать их сверхсинтез (до 100г/л).
- Биосинтез аминокислот в микробных клетках протекает в виде свободных аминокислот или «пула аминокислот», из которого в процессах конструктивного метаболизма синтезируются клеточные макромолекулы.
- Пути синтеза большинства аминокислот взаимосвязаны. При этом одни аминокислоты являются предшественниками для биосинтеза других. Например, пируват – предшественник аланина, валина, лейцина.
- Синтез каждой аминокислоты в микробных клетках реализуется в строго определенных количествах, обеспечивающих образование последующих аминокислот, и находится под строгим генетическим контролем.
- Контроль осуществляется по принципу обратной связи на уровне генов, ответственных за синтез соответствующих ферментов (репрессия), и на уровне самих ферментов, которые в результате избытка образующихся аминокислот могут изменять свою активность (ретроингибирование).
- Данный механизм контроля исключает перепроизводство аминокислот и также препятствует их выделению из клеток в окружающую среду.

# ПОЛУЧЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ

## В обход природного механизма

используют природные «дикие» штаммы, изменяют основные факторы среды (концентрация основного субстрата, рН, соотношение макро- и микроэлементов в среде и др.)

## Изменение контрольного механизма

осуществляется генетическими методами, получают мутантные организмы: ауксотрофные и регуляторные мутанты

Corynebacterium, Brevibacterium, Bacillus, Aerobacter, Microbacterium, Eschirichia

# ПОЛУЧЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ

Промышленные штаммы несут несколько мутаций, затрагивающих механизмы регуляции целевой аминокислоты и ее предшественников, их подразделяют на несколько классов:

**Природные (дикие) штаммы.** Усиливают у них продукцию аминокислот условиями ферментации.

**Ауксотрофные мутанты** используют в тех случаях, когда необходимо синтезировать аминокислоты, являющиеся конечными продуктами разветвленных цепей метаболических реакций аминокислот. При выращивании такого штамма в среде с минимальной концентрацией необходимого ингредиента (аминокислоты) они способны на суперпродукцию аминокислоты-предшественника.

**Мутанты с частично нарушенной регуляцией биосинтеза (регуляторные мутанты)** способны накапливать конечные продукты неразветвленных цепей биосинтеза. Обеспечен биосинтез требуемых аминокислот и подавляется процесс их включения в белки.

Методы генетической инженерии позволяют повышать количество генов биосинтеза путем их клонирования на плазидах.



# ПОЛУЧЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ

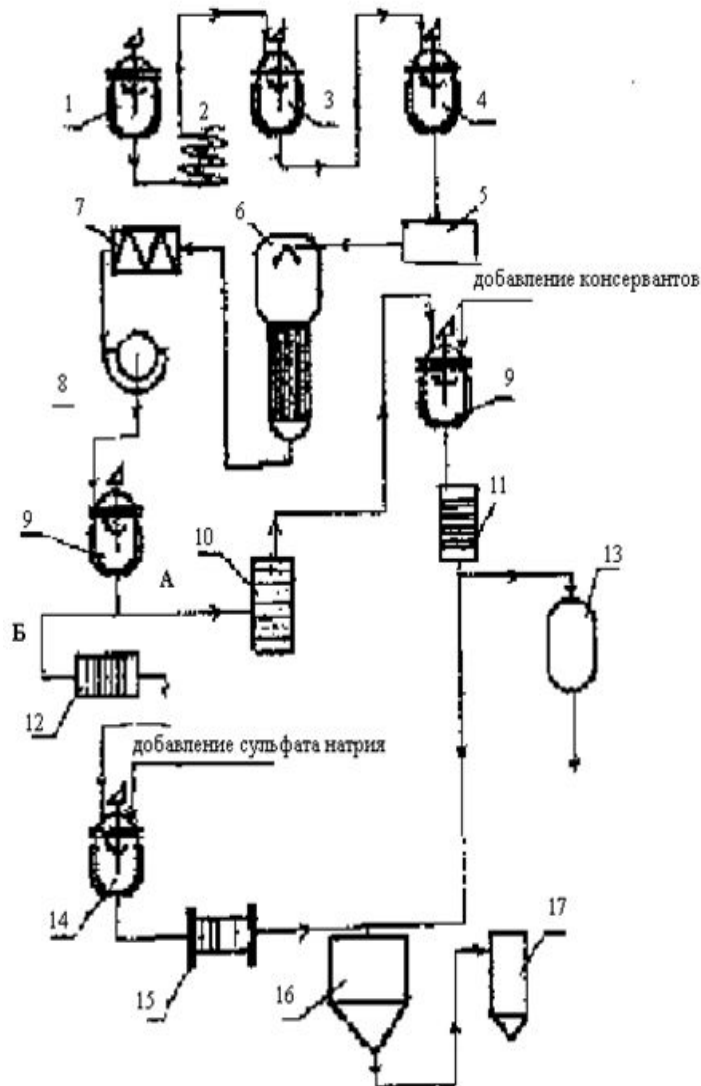
- Производственные биотехнологические процессы получения аминокислот реализуются в условиях глубокой аэробной периодической ферментации.
- Максимальная продукция аминокислоты наступает, как правило, когда прирост биомассы практически прекращается. Поэтому питательная среда на первом этапе ферментации должна обеспечивать сбалансированный рост клеток; а на втором – условия для сверхсинтеза целевой аминокислоты.
- В качестве источника углерода и энергии используют богатые сахаросодержащие субстраты, главным образом, мелассу. Возможно также привлечение более доступных субстратов (ацетат, сульфитный щелок, углеводороды).
- В качестве источника азота используют соли аммония, нитраты, а также аминокислоты и молекулярный азот.
- Периодический режим ферментации и богатая по составу среда требуют соблюдения строгой стерильности в ходе получения инокулята и на ферментационной стадии. Стерилизации подвергаются питательная среда, воздух и все технологическое оборудование.

## ПОЛУЧЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ

- После стадии ферментации в процессе обработки культуральной жидкости клетки отделяют от раствора, который далее подвергают очистке от окрашенных примесей и взвешенных частиц с помощью сорбционных методов.
- Далее процесс проводится с использованием различных методов выделения и очистки в зависимости от сферы применения конечного продукта.
- Для фармакологии и пищевой промышленности аминокислоты выпускают в виде высушенных чистых кристаллических препаратов.
- Для кормовых и технических целей используют стабилизированную и сконцентрированную культуральную жидкость.



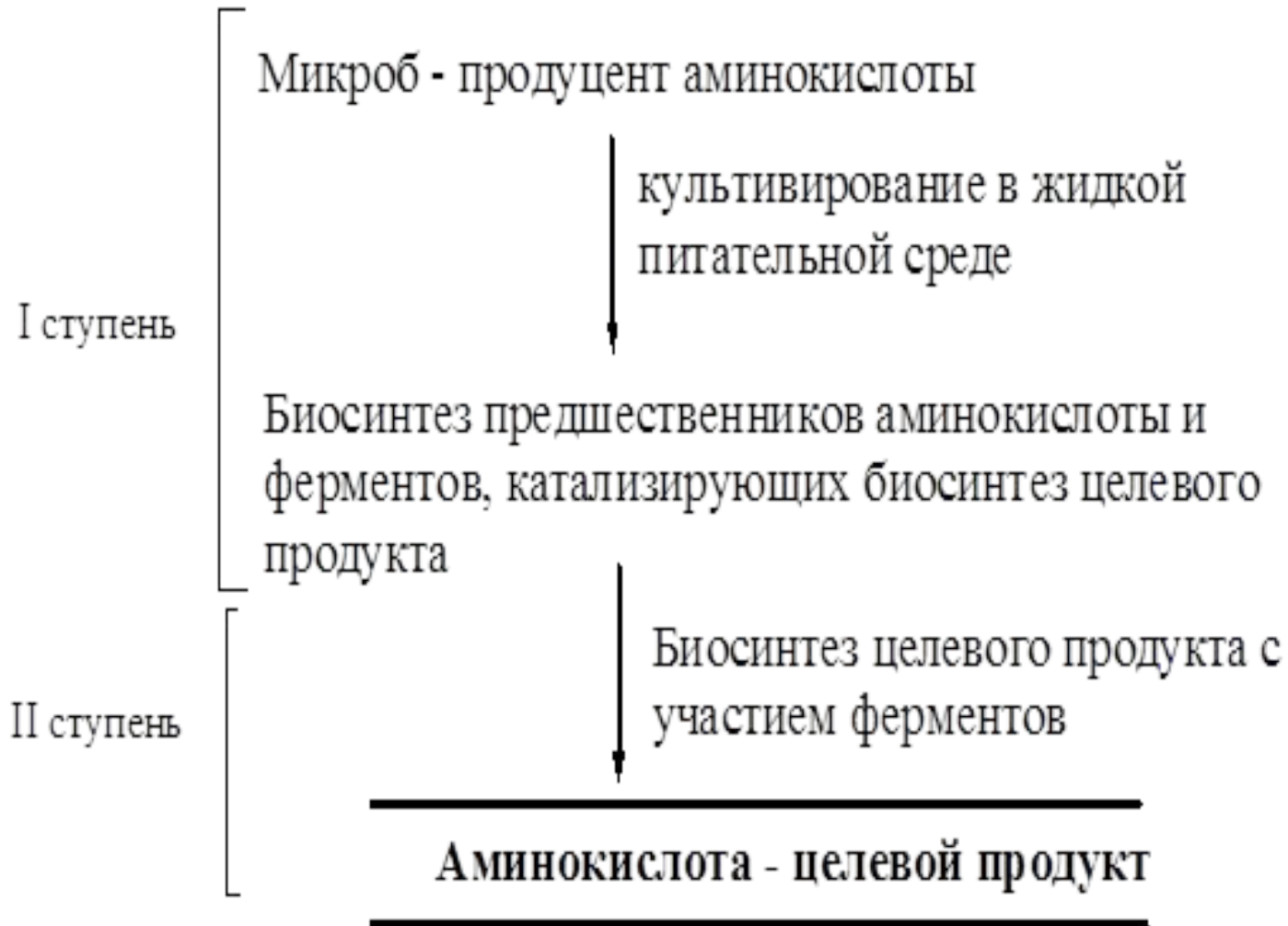
# ПОЛУЧЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ



**Рис. 1. Примерная технологическая схема получения аминокислоты:**

1 – ферментатор; 2 – охладитель; 3, 9 – рефрижераторы; 4 – емкость для предварительной обработки; 5 – центрифуга; 6 – вакуум-упариватель; 7 – аппарат прямой предобработки аминокислоты; 8 – барабанный фильтр; А, Б – пути (при необходимости смыкающиеся); 10 – аппарат для ультрафильтрации; 11 – емкость для консервации раствора аминокислоты; 12 – мембранный фильтр; 13 – накопитель жидкого концентрата; 14 – емкость для осаждения аминокислоты; 15 – фильтр-пресс; 16 – распылительная сушилка; 17 – накопитель сухого концентрата

# ПОЛУЧЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ

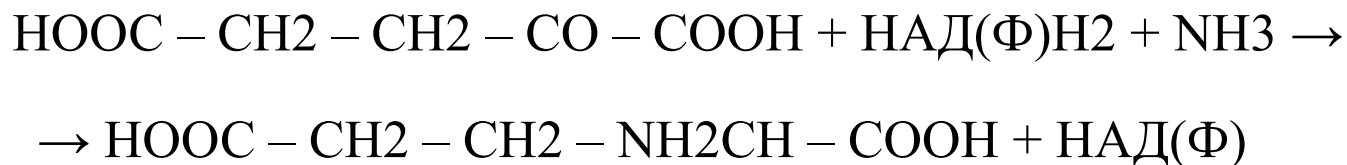


# ПОЛУЧЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ

## Технология получения глутаминовой кислоты



Синтез глутаминовой кислоты происходит в цикле трикарбоновых кислот:

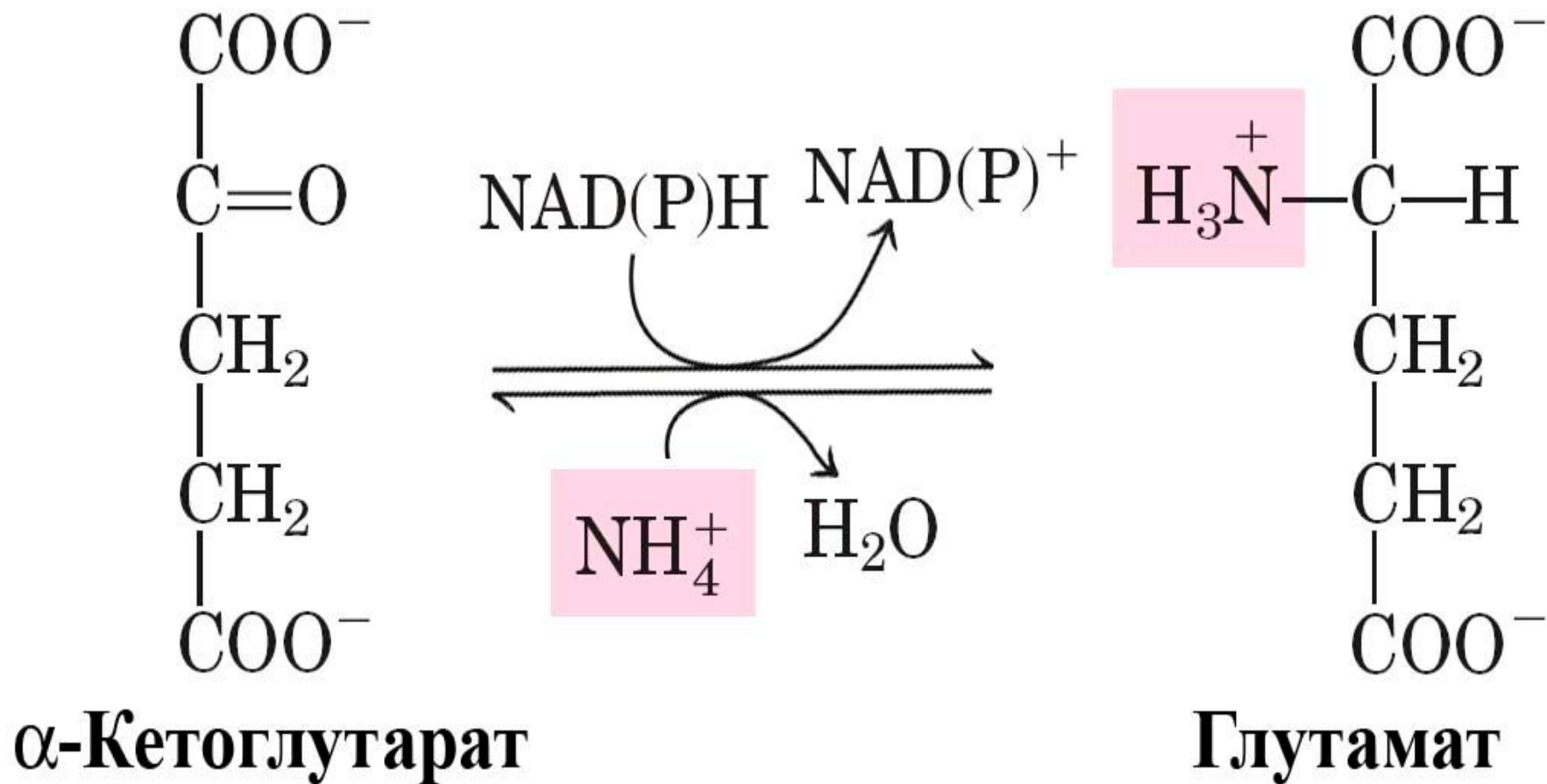


Продуценты: *Micrococcus*, *Brevibacterium*, *Microbacterium*,  
*Corynebacterium*

Сверхпродукция глутаминовой кислоты связана с высокой концентрацией аммония в среде, высокой активностью НАД(Ф)H-зависимой глутаматдегидрогеназы и отсутствием/или дефектом  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназы, катализирующей превращение 2-кетоглутарата в янтарную кислоту.



## ПОЛУЧЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ



# ПОЛУЧЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ

**Искусственный глутамат:  
где он есть**

## E621

Это обозначение ставится на упаковках продуктов, в которые добавили глутамат

**ЧИПСЫ**



**НОРВЕЖСКИЕ САЛТЫ**



**СУХАРИКИ**



**КОЛБАСА, СОСИСКИ**  
особенно дешёвые



**БЪЛГАРСКИЕ КУРНИ**  
и домашние  
большинство приправы



**ПЕЛЬМЕНИ**

**ВОСТОЧНАЯ КУХНЯ** Еда в японских и китайских ресторанах.



**ПАСТЫЛ** быстро  
то растапливается  
конфеты



**КАРТОФЕЛЬНОЕ  
ПЮРЕ** быстрого  
приготовления

# ПОЛУЧЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ

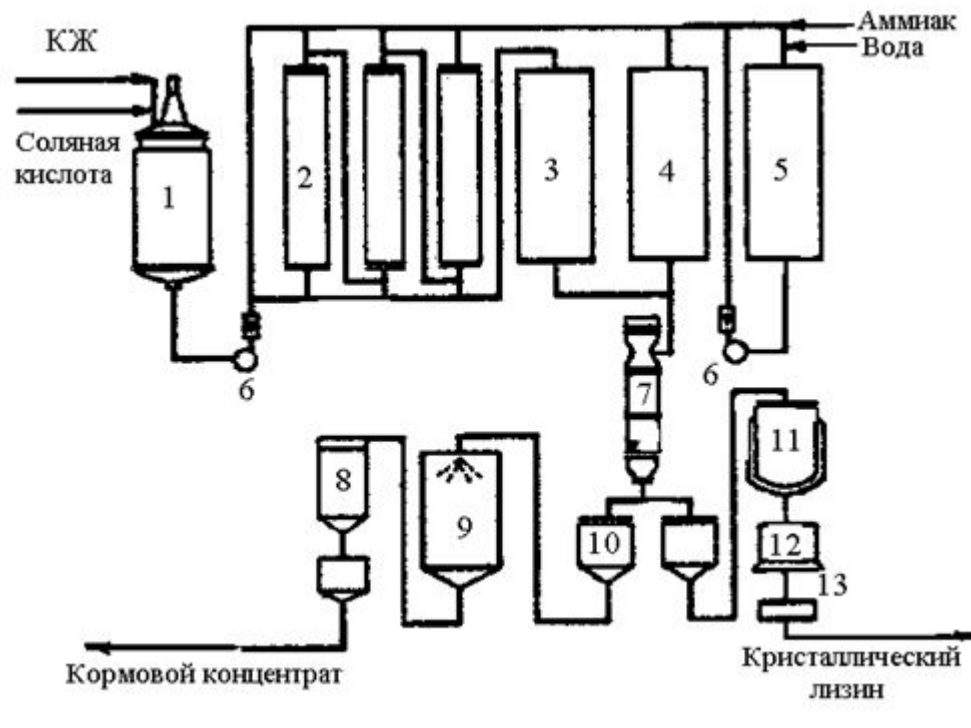


Рис. 2. Технологическая схема получения лизина:

1 – емкость для культуральной жидкости (КЖ); 2 – ионообменные колонны; 3 – сборник элюата; 4 – сборник фильтрата; 5 – емкость для элюата; 6 – насос; 7 – вакуум-выпарной аппарат; 8 – циклон; 9 – сушилка кормового концентрата; 10 – сборник; 11 – реактор-кристаллизатор; 12 – центрифуга; 13 – сушилка