КЫРГЫЗ РЕСПУБЛИКАСЫНЫН БИЛИМ ЖАНА ИЛИМ МИНИСТИРЛИГИ

Кыргыз Республикасынын Илимдер Академиясынын
Түштүк бөлүмүнүн медициналык проблемалар институту

Ош Мамлекеттик университети

Абылаева Б.А., Алыбекова А.Э.

МИКРООРГАНИЗМДЕРДИН БИОТЕХНОЛОГИЯСЫ боюнча ПРАКТИКУМ

Ош-2010

УДК 579

ББК 28.4
А 17

Кыргыз Республикасынын Илимдер Академиясынын Түштүк бөлүмүнүн медициналык проблемалар институтунун окумуштуулар кенеши жана Ош Мамлекеттик университетинин Ботаника, жалпы биологиялык дисциплиналар жана БОУ кафедрасы тарабынан сунушталган.

Рецензенттер:
Кыргыз Республикасынын Улуттук Илимдер
Академиясынын академиги, б.и.д.,профессор Токторалиев Б.А.
Медицина илимдеринин доктору, ОшМУнун профессору Тайчиев И.Т.

А 17 Абылаева Б.А.,Алыбекова А.Э., «Микроорганизмдердин биотехнологиясы боюнча практикум»: Практ. колдонмо.- Ош.: 2010- 174 б.

ISBN 978-9967-09-186-3

Практикумдун негизги максаты - теоретикалык жана практикалык курстар боюнча студенттердин билимин терендетип кенейтүү, аларды микроорганизмдердин биотехнологиясы тармагындагы изилдөөлөр жана ыкмалар менен тааныштыруу. Бул колдонмодо теоретикалык негиздер, практикалык тапшырмалар, текшерүү үчүн суроолор, схемалар жана сүрөттөр берилген.

Студенттер микроорганизмдерди өстүрүүнүн технологиясы жана алардын өсүү, өөрчүү мезгилинде пайда болгон продукталар менен таанышa алышат.

Бул колдонмо университеттеги илим изилдөөчүлөр, аспиранттар, биолог, биотехнолог адистиктериндеги студенттер жана ошондой эле айыл чарба адистигиндеги педагогикалык жогорку окуу жайларынын студенттери үчүн ылайыкташып түзүлгөн.

А 1905000000-10

ISBN 978-9967-09-186-3

УДК 579
ББК 28.4
©Абылаева Б.А.
Алыбекова А.Э.
2010

Автордон

Биотехнология областында теоретикалык иштердин тез өнүгүшү жана изилдөөлөрдүн жаңы эксперименталдык иштелмелерин түзүү, биолог, биотехнолог адистиктериндеги студенттердин дайыма методикалык даярдыкта болушун талап кылат. Азыркы күндө изилдөө объектилерин кеңейтүү менен ар түрдүү группадагы микроорганизмдердин метаболизмдеринин адистешүүсүн үйрөнүүгө көбүрөөк көнүл бурулууда. Практикум жалпы биотехнологиянын негиздери курсунун базасында түзүлгөн, методикалык жана теоретикалык бөлүмдөрдөн туруп, схемаларды жана сүрөттөрдү камтыйт.

Практикумдун негизги максаты - студенттердин билимин теоретикалык курс боюнча кенейтүү менен терендетип жана микроорганизмдердин биотехнологиясы областындагы изилдөөлөрдүн ыкмалары менен тааныштыруу.

МАЗМУНУ

Киришүү.. 6
Лабораториялык жумуш № 1 11
Лабораториялык жумуш № 2 22
Лабораториялык жумуш № 3 33
Лабораториялык жумуш № 4 41
Лабораториялык жумуш № 5 46
Лабораториялык жумуш № 6 51
Лабораториялык жумуш № 7 54
Лабораториялык жумуш № 8 56
Лабораториялык жумуш № 9 59
Лабораториялык жумуш № 10 68
Лабораториялык жумуш №11 72
Лабораториялык жумуш №12.. 77
Лабораториялык жумуш № 13 82
Лабораториялык жумуш № 14 90
Лабораториялык жумуш № 15 97
Лабораториялык жумуш № 16 105
Лабораториялык жумуш № 17.. 109
Лабораториялык жумуш № 18.. 116
Лабораториялык жумуш № 19.. 120
Лабораториялык жумуш № 20.. 128
Лабораториялык жумуш № 21.. 136
Лабораториялык жумуш № 22.. 142
Лабораториялык жумуш № 23.. 145
Лабораториялык жумуш № 24.. 147
Лабораториялык жумуш № 25.. 152
Маселе чыгаруу.. 156
Кайталоо жана текшерүү иштери үчүн суроолор.................... 162
Тиркеме.. 167
Эритмелерди жана азык чөйрөсүн даярдоонун рецепти............ 167
Микроорганизмдердин коллекциялык культураларын сактоо... 171
Сунушталган адабияттар 174

ЛАБОРАТОРИЯЛЫК ЖУМУШТАРДА КОЛДОНУЛУУЧУ КЭЭ БИР СТАНДАРТТЫК СИМВОЛДОР, БЕЛГИЛЕР ЖАНА КЫСКАРТЫЛГАН СӨЗДӨР

БАЗ – биологиялык активдүү заттар

ТК – техникалык коопсуздук

ПЗ – пектин заты

СЭПС – суудa эрүүчү полисахарид

ГМЦ - гемицеллюлоза

КХ – кагаз хроматографиясы

ЖКХ – жука катмар хроматографиясы

ЯМР – ядролук-магниттик резонанс

ЛЦС - лигноцеллюлоздук субстрат

АПК - аминопенициллин кислотасы

ЭПК - эт-пептон кайнатмасы

ЭПА - эт-пептондук агар

АКС – абсолюттук кургак салмак

СА – сусло агар

КЗ – кургак зат

КЧ – кургак чөкмө

ТТК – табигый таза культура

ЛСК – лизиндин суюк концентраты

КС – культуралдык суюктук

ЧҮС – чөкмө үстүндөгү суюктук

БВК - белок-витаминдик концентрат

БВК - белок-витаминдик кошулма

ККУК- козу кулак уксуз кислотасы

ЖКК - жүзүм кант кислотасы

КИРИШҮҮ

Азыркы убакта илимдин тармактары: биологиянын, биохимиянын, генетиканын, микробиологиянын, физикалык, коллоиддик, аналитикалык жана органикалык химиянын өтө дүркүрөп өнүгүшүндө биотехнология предмет аралык мааниге ээ.

Жалпысынан алганда биотехнология – бул биохимиянын, микробиологиянын, молекулярдык биологиянын ыкмаларын колдонуу менен микроорганизмдердин, өсүмдүктөрдүн жана жаныбарлардын клеткаларынын жана ткандарынын культураларын технологиялык процесстерде колдонуу.

Азыркы күндө интенсивдүү өнүгүп жаткан биотехнологиянын негизги илимий бөлүгү болуп жасалма түзүлгөн шартта микроорганизмдердин популяцияларынын биосинтезинин закон ченемдүүлүгүн үйрөтүүчү микробиологиялык биотехнология же микробдук синтездин биотехнологиясы саналат. Микробдук синтездин биотехнологиясынын өнүгүшү, биринчиден белгилүү бир продукталарга муктаждыктын натыйжасында, экинчиден сырьелорду б.а. таштандылардын көп санда топтолушунан, аларды утилизациялоодо экономдуу болушунан келип чыгат.

Биотехнология бүгүнкү күндө традициялык бөлүмдөрдү үйрөнүү областында көп ийгиликтерге жетишкендиги жана тез өнүгүү темпи менен айырмаланат: репликация, транскрипция, трансляция, рекомбинация, гендердин репарациясы, мутагенез жана клеталык айлануулар, микроорганизмдердин ДНКсынын рекомбинанттык молекуласын манипуляциялоо жана бөлүп алуу технологиясы, биотехнологиядагы микробдук синтезден алынуучу биопродукциялардын негизги компоненттери болуп саналат.

«Микроорганизмдердин биотехнологиясы» курсу студенттерди тааныштырууда төмөндөгүдөй максаттарды коет:

- биотехнологияда колдонулуучу микробиологиялык процесстердин принциптери жана өзгөчөлүктөрү менен;
- микроорганизм-продуценттерге жана сырьего коюлган талаптар менен;
- микроорганизмдерди өстүрүүнүн ыкмалары менен;
- максаттуу продуктаны бөлүп алуу жана тазалоо ыкмалары менен;
- микробиологиялык синтез жана трансформациянын негизинде конкреттүү өндүрүүчү өндүрүштөр менен;

Азыркы күндө биотехнология адистерине биотехнологияны максаттуу түрдө өндүрүшкө киргизе ала тургандай химия-биология областтарындагы илимдерди билиши зарыл. Бул практикум традициялык жана азыркы талапка ылайыктуу лабораториялык иштердин ыкмаларынын анализдерин камтыйт.

Аталган лабораториялык жумуштарды жана теоретикалык материалдарды түшүнүп, изилдөө иштерин жана технологиялык процесстерди уюштурууда терен фундаменталдык билимге жана практикалык тажрыйба алуусун камсыздап, өндүрүштүн башкы максатына жетүү үчүн тамак аш системаларынын айлануударын контролдоп, ресурстарды максималдык жана рационалдык негизде пайдалануу менен адамдардын физиологиялык керектөөсүн жогорку сапаттагы продукталарды түзүү менен камсыз кылууга жетишет. Микробиологиялык технологиянын негизинде ар түрдүү өндүрүштөр көп стадиялуу мүнөзгө ээ жана микробиологиялык стадиялар менен биргеликте химиялык технологияга мүнөздүү болгон башка

көптөгөн процесстер жүрөт. Анын кээ бир өзгөчөлүктөрүн атай турган болсок, алар:

1. Микроорганизмдердин культураларын өстүрүү процесси көбүнчө өтө таза шартта, ферментерго түшүүчү бардык компоненттер стерилденген абалда жүргүзүлөт.
2. Көпчүлүк учурда процесстердин жүрүшүндө реологиялык касиеттеринин өзгөрүшү менен, микроорганизмдерди өстүрүү гетерогендик көп фазалуу системада жүргүзүлөт.
3. Азык чөйрөсүнүн көп компоненттүүлүгү.
4. Микробдук метаболиттердин синтезинде жана биомассанын өсүү регуляциясынын биохимиялык механизмдеринин татаалдыгы.
5. Процесстин автокатализдүүлүгү б.а. процесстин жүрүшүндө реакциянын ылдамдыгына продукталардын тийгизген таасири (анын ичинде биомассанын пайда болушу, синтезделген ферменттер).
6. Химиялык технологияга салыштырганда биотехнологиялык процесстердин жогорку деңгээлде эффективдүүлүгү.
7. Метаболизмдин биосинтезинен пайда болгон продукталардын жана микроорганизмдердин өсүшү үчүн оптималдуу шарттардын айырмачылыктары.
8. Микроорганизмдерди өстүрүү көп деңгээлдүү структурага ээ болгон, татаал процесс.
9. Микроорганизмдерди өстүрүү - процесстерди жүргүзүүдө татаал аппараттарды, инструменттерди, компьютердик каражаттарды ж. б. талап кылган татаал технологиялык процесс.

Лабораториялык жумуштун жалпы тематикасы

№	Лабораториялык жумуштун темалары
1.	Лабораториядагы техникалык коопсуздук эрежеси
2.	Азык чөйрөлөрүн даярдоо
3.	Микробдук клеткалардын түзүлүшү
4.	Микроорганизмдердин өсүүсүн үйрөнүү
5.	Эгүүчү материалдардын таза культураларын алуу
6.	Микроорганизмдер – белоктун продуценттери
7.	Углеводороддук азык чөйрөдө өскөн белоктун негизги продуценттери
8.	Микроорганизмдер – майлардын жана май кислоталарынын продуценттери
9.	Сүт, лимон жана пропион кислоталарын алуу
10.	Ферменттик препараттарды өндүрүүнүн технологиясы
11.	Микробдук клеткаларда лизиндин биосинтезделиши
12.	Тамак-аш органикалык кислоталарынын пайда болуу химизми
13.	Кенири таралган антибиотиктерди алуунун технологиясы
14.	Мөмө-жемиш ширесинин жана винонун микроорганизмдери
15.	Вино өндүрүүдө суслону ачытуунун биотехнологиялык процесси
16.	Спирттик ачуу
17.	Түймөк бактерияларынын негизинде өндүрүлгөн

	бактериалдык жер семирткичтер
18.	Металлдарды микробдук иштетүү
19.	Биогазды алуу
20.	Нан жасоочу ачыткычтарды алуунун технологиясы
21.	Пектин затынын ажыроосу
22.	Клетчатканы ажыратуучу микроорганизмдер
23.	Базидиалдык козу карындарды суюк азык чөйрөсүндө өстүрүү
24.	Культуралдык суюктукту фракциялоо, микробдук полисахариддерди алуу
25.	Культуралдык суюктуктан продукталарды бөлүп алуу

Лабораториялык жумуш № 1

Тема: Лабораториядагы техникалык коопсуздук эрежелери

Сабактын максаты: микробиологиялык лабораторияда техникалык коопсуздукту сактоону жана микроскоп менен иштөөнүн негизги эрежелерин үйрөнүү.

Керектелүүчү материалдар жана каражаттар: ТК инструкциясы, лабораториялык жабдуулардын паспорту.

Иштин теоретикалык негизделиши

Лабораториядагы техника эрежелери: Лабораторияда иштегенде бир нече негизги эрежелерди билүү керек. Бул сабак техника эрежелерин сактоо инструкциясы менен таанышуудан башталат. Лабораторияга үстүнкү кийим, бут кийим менен кирүүгө, столдун үстүнө сумка жана башка буюмдарды коюуга тыюу салынат. Микробиологиялык лабораторияда атайын чачты жаап туруу үчүн чепчик кийип, халат, тапичке кийип иштөөгө уруксаат, анткени алар микроорганизмдердин таралышынан сактайт. Ар бир студентке атайын иштөөчү орундар менен микроскоп берилет. Сабак болгон учурда ар бир иштөөчү орун таза жана бардыгы ордунда болушу керек. Ар бир пробиркада жана чөйчөкдө микроорганизмдердин аталышы жазылат, аларды эгүү убактысы, студенттин фамилиясы, аты жазылат.

Иш жүрүп жаткан кезде бактериологиялык ийнечелерди отко тоскондо курамында кармалып жүргөн микроорганизмдер өлөт. Суюк чөйрөдө өскөн микроорганизмдерди ооз көңдөйүндөгү микрофлорадан коргоо максатында арткы жагына кебез тыгылган пипетканын жардамы менен алууга болот. Иштетилген пипетка, шпатель фарфор идишке салынып, дезинфекцияланып аралашма

(1% түү хлорамин аралашмасы, 3%-түү фенолдун аралашмасы) колдонулат, чыпка кагазы, иштетилген препараттар, ширенке кристаллизаторго салынат.

Столдун үстүнө аталган предметтерди коюууга тыюу салынат. Бардык препараттар атайын кристалдык айнекчелерде сакталат.

Лабораторияда тамак аш жегени тыюу салынат. Эгерде кокустан колун же халатын микроорганизмдин культурасы менен булгап алса, анда ал жөнүндө мугалимге же лаборантка билдирип, тез арада дезинфекциялоо керек.

Сабак бүткөндөн кийин иш ордуларын дезинфекциялап колдонулган жабдууларды лаборантка берип, колду самындап жууп, бөлмөнү (30-60) УФ лампасы менен тазалайт.

Акырында изилденген иштин жыйынтыгы протоколдонот.

Лабораториялык идиштерди тазалоо

Микробиологиялык лабораторияда иштелип турган идиштер таза жана стерилденген болуусу зарыл. Булганган идишти хлордун аралашмасы менен тазалашат, ал пробиркаларды таза жана ар кандай заттардан жакшы тазалайт. 30-40 мүнөттөн кийин хром арлашмасы бар эритме менен, андан кийин суу менен жууп коебуз.

Жаңы лабораториялык идишти ысык самын сууда 15 мүнөт кайнатып, андан кийин муздак суу менен жууп коебуз. Эгерде идиш чала жуулган болсо аларды 10-15 мүнөт 10% - түү туз кислотасы менен кайнатып андан соң муздак суу менен жууп коюу керек.

Лабораторияда колдонулуучу пипеткалар таза кургашы керек, анткени алар реакцияга жолтоо болушу мүмкүн. Эгерде алардын ичинде суу калса, аны хром аралашмасы менен тазалап, муздак суу менен жууп коюу керек. Пипеткаларды тазалоодо хром

аралашмасын ж.б. эритмелерди ооз менен тартып соруута болбойт, ал үчүн атайын пипетка үчүн груша (резина баллонун) кийгизет.

Бетинде майдын бүртүкчөлөрү калган предметтик айнек менен иштөөгө жарабайт, анткени анын бетине тамчылаткан суунун тамчысы айнектин бетинде бирдей аралыкта жайылбайт да, майда тамчыларга ажырап кетет. Мазок жасоодо таза жуулбаган айнек иштегенге өтө тоскоол болот. Ошондуктан предметтик айнекти 24 саат хром аралашмасында кармап, андан кийин жакшылап жууп салат. Андан кийин аларды 5%-түү соданын эритмесинде кайнатып, кайрадан таза суу менен жууп, пинцет менен кармап сактоо үчүн Никифорованын аралашмасына салат. Жуулган идиштерди эч убакта аарчып кургатбайт, жөн гана комнаталык бөлмөдө же кургатуучу шкафта 100-105^{0}С температурада кургатат. Таза идиштер кебез тыгын менен жабылып, чаң болбогон жерде сакталат

Автоклав менен иштөө эрежеси

Автоклавда стерилдөө жогорку басымда жүрөт, ошондуктан автоклавда иштөөдө этият болууну талап кылат. Автоклавдын ишке жарактуу мүмкүнчүлүгүн котланадзордун жумушчулары текшеришет. Өндүрүштөр ар түрдүү системадагы автоклавды иштеп чыгарганы менен, бирок алардын иштөө жана түзүлүш принциптери окшош.

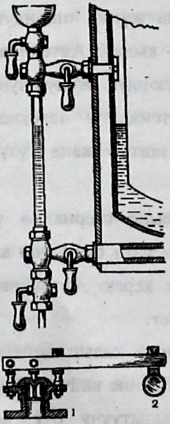
Автоклавдын ички стерилдөөчү камерасына стерилдөө үчүн материал коебуз, сууну буулаидыруучу камерага суу куюп анын көлөмү суу өлчөөчү трубкага дал келиши керек. Автоклавдын капкагы бурагычтар менен корпуска бекитилет.

Автоклавдын капкагы кыйшык жабылып калып, проблема жаралбагандай кылып бурагычтарды бири-бирине кайчы түрүндө бекитет. Кранды ачып, андан кийин жылытуучу бурагычты

жандырат. Буу, буу чыгаруучу крандан чыгып баштаганда, кранды жаап басымдын көтөрүлүп жатканын манометрден көрүп туруу керек.

Стерилдөө убактысы автоклавда белгиленген басым көрсөтүлгөндө белгиленет. Манометрдин жана суунун кайноо температурасынын арасындагы көрсөткүч төмөндөгүдөй көз карандылыкта болот. Нормалдуу атмосфералык басым (760 мм сымап таякчасы) деп белгиленет.

Манометрдин көрсөткүчү, атм	Суунун кайноо температурасы, °C 112
0,5	112
1,0	121
1,5	127



1- Сүрөт. Автоклавда суу өлчөөчү түтүк (жогорудан), коргоочу клапан (төмөндө):
1- камераны атмосфералык аба менен бириктирип туруучу тешикче. 2 - рычагдын астындагы тешикчени жаап туруучу түтүкчө.

Убакыттын өтүшү менен бул көрсөткүчтү текшерип туруу керек, эгерде туура эмес көрсөтө баштаса, анда автоклавды оңдоо керек экендигин көрсөтөт.

Автоклавды текшерүү үчүн: стерилдөөчү камераны 100 г бензой кислотасы, анча көп эмес фуксин же болбосо метилен сыясын кошуп, аны камерага коюу керек, эгерде манометр көрсөткүчү 1 атм. болсо, бензой кислотасы ээрип, боектор менен кошулуп куйманы пайда кылат, анда автоклав керектүү температураны берет (121°С).

Стерилдөө үчүн берилген убакыт бүткөндөн кийин автоклавды өчүрүп, манометрдин көрсөткүчү нөл болгонго чейин аны муздатуу керек. Эгерде убакыт бүтөр замат эле автоклавдын капкагын ачып жиберсе, анда пробиркалардагы жана колбалардагы кебез тыгындар айрылып кетиши мүмкүн. Ошондуктан буу чыккан соң капкак ачылат. Эгерде стерилдөө учурунда басым берилген денгээлден ашып кетсе, аны коргоочу клапан аркылуу буу чыгаруу менен жөнгө салынат.

Микроскоп. Микроорганизмдердин клеткаларынын түзүлүшүн жана морфологиясын, микрометр менен өлчөнүүчү чондуктарды (1 мкм = 0,001 мм), нанометр (1 нм = 0,001 мкм), ангстрем (1 А° = 0,1 нм), микроскоптун жардамында гана үйрөнүүгө болот. Микробиологиялык лабораторияда микроорганизмдерди изилдөөдө кеңири таралган жана иштөөгө ылайыкталган обьект болуп, ***МБИ-1, МБР-1, БИОЛАМ-70Р*** (жумушчу) С (студенттик) Д (жолдо алып жүрүүчү) саналат.

Микроскоп механикалык жана оптикалык бөлүктөрдөн турат. Микроскоптун механикалык бөлүгүнө предметтик стол менен

штатив, тубус, макро жана микрометрдик винттердин айлануусунун таасиринде препаратты чон жана кичине кылып көрүүгө болот. Штативдин үстүнкү бөлүгүндө тубус кармоочу орун бар, винтти сааттын жебеси боюнча айландырганда тубус кармоочу жер ылдыйлайт, эгерде тескерисинче болсо, анда көтөрүлөт. Ал жерде револьвер, алардын тешикчелеринен объективдер менен тубусту бурап чыгарууга болот.

Оптикалык бөлүгү-жарык берүүчү аппараттан, обьективден жана окулярдан турат. Жарык берүүчү аппарат күзгү менен конденсордон турат. Күзгүнүн бир бети жалпак бардык жарыкты ар кандай көлөмдө чоңойтууга болот. Башка жагында күзгүнү кичирейтилген көлөмдө конденсорсуз иштетүүгө болот. Конденсор бир нече линзалардан турат, алар күзгүгө түшкөн нурларды топтоп, препараттын бетине чагылдырат. Диафрагма ашыкча нурларды кармап турат.

Обьектив микроскоптун эң негизги бөлүгүнүн бири болуп саналат. Ал линзанын системасынан турат. Ал чыныгы жана тескери форманы сүрөттөп берет. ***МБР-1***, Биолам микроскобунда 8,40 жана 90 эсе чоңойтуп берүүчү обьективдер колдонулат. Объективдин чонойтуп бериши фронталдык линзанын фокустук аралыгынан жана анын кыйшактыгынан көз каранды.

Канчалык фронталдык линзанын кыйшыктыгы жогору болсо, ошончолук фокустук аралык кыска болот жана объективдин чонойтушу ошончолук көп болот. Ошондуктан объектив канчалык көп чонойтуп берсе, анда аны препаратка жакын төмөн түшүрүү керек.

Жарык берүүчү аппарат күзгүдөн жана конденсордон турат.

Эгер жарык түздөн түз жарык булагынан түшсө (күн нуру, лампочка) же толук эмес жабуу же жарык фильтрлөөчү айнектерди иштетүү мүмкүн. Кээде жарыкты жөнгө салуу үчүн окулярды алып коюп, тубустан карап туруп, күзгүнү айландырууга, конденсорду төмөн түшүрүүгө болот.

Обьектив микроскоптун негизги бөлүктөрүнүн бири. Ал металл оправасына бекитилген линзадан турат.

Бинокулярлар кошумча чоңойтуп бере алат (ал обьекти бир эле убакта эки көз менен кароого негизделген). Бирок бул жалпылап чоңойтуу микроскоптун бардык мүмкүнчүлүктөрүн толук ачып бере албайт. Чоңойтулган сүрөт так, тунук же так эмес болушу мүмкүн. Микроскоптон көрүнгөн сүрөттү тетрадга түшүрүүдө эң кичине аралыкта көрүнгөн эки чекитти карап, алар бири-бирине кошулуп кеткенге чейин сүрөттөөгө болот.

8х обьективде фронталдык линзалардын аралыгы 3, 5, 3 мкм 40 х- 0,4 мм, 90х- 0,1мм болот.

Окуляр обьектини кароо үчүн колдонулат. Эки линзасы бар: жогорку (көздүн) жыйноочу. Окуляр 5, 7, 10, 12, 15 жана 20 жолку көбөйтүүнү бере алат.

Негизинен микроскопиялык обьекти үч типтеги системада каралат. 1) кургак- обьектинин линзасы менен обьектинин ортосунда аба бар (п=1), суу тибинде – обьектинин линзасы менен обьектинин ортосунда суунун тамчысы бар (п=1,3) , майлуу- обьектинин линзасы менен обьекттин ортосунда майдын иммерсиясы (п=1,5г) бар.

Микроскопту күндүзү колдонгондо табигый нурду колдонсо болот. Предметтик столго препаратты жайгаштыруу керек. Биринчи 8х обьективде изилдейбиз. Деталдык изилдөөдө

ОШ МАМЛЕКЕТТИК УНИВЕРСИТЕТИ
КИТЕПКАНА
ИНВ № 967163

препаратка 40x обьекти колдонобуз. Препаратты карап бүткөндөн кийин револьверди 8x чоңойтулган көлөмдө препаратты предметтик столго коебуз. Микроскоп иштетилбеген убакта 8x чоңойтулган абалда болушу керек. Конденсордун диафрагмасын чагылуунун контрастын өзгөртүү үчүн гана колдонууга болот.

Микроорганизмдерди микроскопиялык изилдөө ыкмалары

Акыркы жылдары электрондук микроскоптун жардамында микроорганизмдердин морфологиясын үйрөнүүдө көптөгөн ийгиликтерге жетишишти. Азыркы учурдагы биологиялык микроскоп 2000-2500 эсе чоңойтуп берүү менен изилденип жаткан микроорганизмдин морфологиялык өзгөчөлүктөрүн оңой аныктап берүү мүмкүнчүлүгүнө ээ. Эки чекит көрүнгөн эң жакын аралыкты (мында жакын жайгашкан эки чекит микроскоптон өз алдынча көрүнөт) уруксаат берүү мүмкүнчүлүгү деп аташат. Чоңойтууга уруксаат берүү мүмкүнчүлүгү эки жол менен ишке ашат:

1) чоң апертурадагы обьективди колдонуу менен ал ар бир обьективде сүрөттөлүп жазылган көбүрөөк сандык апертура иммерсиондук обьективдерде болот (МИ-90 или ОИ-90), аны менен көбүнчө микроорганизмдердин морфологиясы изилденет;

2) препаратка берилүүчү жарык нурунун толкундарынын узундуктарын кыскартуу менен; Мындай учурда изилдөөнү толкун узундуктары кыска болгон ультракөгүш жарыгында жүргүзөт. Бул үчүн атайын УФ-микроскобу колдонулат. Биологиялык микроскоптун жардамында негизинен фиксирленген жана боелгон микроорганизмдерди көрүүгө болот. Тирүү мезгилинде алар түссүз болуп жакшы көрүнбөйт. Тирүү микроорганизмдерди үйрөнүүдө микроскопко кошумча приборлор колдонулат.

Микроскопто иммерсиондук обьективди колдонуу эрежеси

Азыркы күндө микробиологиялык окуу лабораториясында биологиялык ***МБИ- 1, МБИ-3*** үлгүсүндөгү жарык микроскоптору кенири колдонулат. Эске сала кетсек микроскоптун обьективдери кургак жана иммерсиондук болуп бөлүнөт. Кургак обьективдер анча чон эмес чондукта (8х, 40х) (400—600 эсе) колдонулат. Обьектив менен препараттын ортосунда аба катмары жайгашат. Аба катмарынын болушу, айнекке түшкөн нурлардын сынышы байкоочунун көзүнө терс таасирин тийгизбей чагылып кетет.

Микроорганизмдерди изилдөөдө чон өлчөмдө (900—1350 эсе) көрсөтүүчү иммерсиялык же майланган объектив (90х) колдонулат. Иммерсиялык объектив менен иштөөдө препаратка кедр майынан бир тамчы тамчылатат. Кедр майынын жарыкты сындырышы айнектин жарыкты сындыруу касиетине окшош, ошондуктан объективдин линзасы менен айнектин ортосунда бирдей чөйрө пайда болот. Мына ушул өзгөчөлүктүн жардамында бардык нурлар өздөрүнүн багытын өзгөртпөстөн, сынбаган калыбында объективге берилип көзгө көрүнбөгөн майда объектилерди да көрүүгө болот

Иммерсиондук объективди төмөндөгүчө колдонууга болот.

Фиксацияланып жана боелуп даярдалган препаратты алгач кургак системадагы объективде карайт. Ыңгайлуу учурду тапкандан кийин препаратты эки жагынан микроскоптун столуна бекитет. Микроскоптун тубусун көтөрүп, револьверди айландыруу менен иммерсиялык обьекти жайгаштырат. Андан кийин препараттын үстүнө (микроскоптун столунан чыгарбай туруп) иммерсиондук май тамчылатат (көбүнчө кедр майын) да иммерсиондук обьективди түшүрөт. Бул учурда макрометрдик винт менен иштөөдө өтө кылдат болуу керек. Обьективдин алдынкы линзасы майга матырылып

зыянга учурабагандай кылып, бирок жакындашканын каптал жагынан көрүп байкайт. Андан кийин окулярды карап, изилдеп жаткан объект көрүнгөнгө чейин макрометрдик винт менен тубусту акырын көтөрөт. Фокусту микрометрдик винт аркылуу тактайт. Бул үчүн конденсордун диафрагмасын ачып, жарыкты көбөйтөт.

Кедр майы менен иштеп бүткөндөн кийин конденсор менен объективди тазалайт. Биринчи майды чыпка кагазы менен аарчып, андан кийин тазаланган бензинге чыланган жумшак кебез менен таза аарчыйт. Тазалоо үчүн ксилолду же спиртти колдонууга мүмкүн эмес, анткени аларды колдонгондо объективдин линзасы жабышкак болуп калышы мүмкүн.

Келердин жарыгы. Оптикалык мүмкүнчүлүктөрдү толук пайдалануу үчүн азыркы учурдагы биологиялык микроскопторго Келердин принциби боюнча препараттарды көрүүдө жарыктын болуусу зарыл. Келердин принциби коллектордогу апертурада жарыктын чагылышын жайгаштырууда, конденсор жана объектив бири-бири менен бирдей болушу керек. Апертуранын сандык мааниси төмөндөгү формула аркылуу аныкталат: Nap=п sin α, мында Nap - апертуранын сандык мааниси, п — чөйрөнүн көрсөткүчү, α — апертуралык бурч (объективдин оптикалык остун ортосундагы бурч жана объективге түшкөн нурлардын көбүрөөк сынышы).

1. ОИ-19 же ОИ-9 жарык бергичтери бириктирүүчү планка аркылуу микроскоптун алдына жайгаштырылат. Жарык бергич трансформатор аркылуу токко уланат. Жарык бергичтин корпусун айландыруу менен жарыктын агымы микроскоптун күзгүсүнө берилет.

2. Микроскоптун конденсорун жогору көтөргөндө диафрагманы толук жаап калат.

3. Диафрагма талаасын жарык бергич 1,0—1,2 см чондуктагы тешикче калтыруу менен жаап калат.

4. Жарык бергичтин лампасынын патронун кыймылдатуу менен жарык нурун микроскоптун күзгүсүнүн борборуна чагылдырат ал көрсөтүүчү обьектини же сүрөттү так көрсөтөт. Ал үчүн күзгүгө бир бөлүк ак кагаз коюп жарык нурун таап алуу зарыл.

Күчтүү обьективдерди колдонууда Келердин принциби боюнча жарыктын берилишинде апертуранын сандык мааниси (1) ден жогору болот.

Май иммерсиялары менен иштөөдө (Nap - 1,25-1,3), препаратка иммерсиялык майдан бир тамчы тамызып коюу (п=1,515), ал эми конденсордун линзасын суу менен суулап коюу (п=1,333) сунушталат.

Микроскопту тазалоо. Микроскоптун оптикалык жана механикалык бөлүгү таза туруусу зарыл. Микроскоп жыгачтан жасалган кутучада сакталса, анда анын линзасы чаң болуп калат. Ошон үчүн кутучага этилен баштыгын кийгизип коюш керек. Оптикалык бөлүгү булганса, сүрөттү жакшы көрсөтпөйт. Микроскоптун бардык бөлүгүн жылына бир жолу гана тазалоо керек. Микроскопту тазалоо үчүн атайын адиске кайрылыш керек.

Лабораториялык жумушту аткаруунун ирээттүүлүгү

1. Техникалык коопсуздук эрежелерин сактоо инструкциясы менен микробиологиялык лабораторияда иштеген студенттерди тааныштыруу.
2. Микробиологиялык лабораториядагы жабдуулар менен таанышуу.

3. Микроскоптордун түрлөрү жана иштөө эрежелери менен таанышуу.

Текшерүү үчүн суроолор.

1. Лабораториядагы кайсы негизги эрежелерди сактоо керек?
2. Микроскоптордун негизги түрлөрүн айтып бергиле.
3. Микроскоптун негизги бөлүктөрүн атагыла.

Лабораториялык жумуш № 2

Тема: Азык чөйрөлөрүн даярдоо

Сабактын максаты: азык чөйрөлөрүн даярдоонун, аларды куюштуруунун, ошондой эле азык чөйрөлөрүн жана лабораториялык каражаттарды стерилдөөнүн ыкмаларын үйрөнүү.

Керектелүүчү материалдар жана каражаттар: уй эти, даки чыпкасы, суу банясы, кебез же кебезден жасалган материал, аш тузу, пептон, жумуртка, чыпка кагазы, индикатор кагазы, бикарбонат натрийдин 10 % - түү эритмеси.

Иштин теоретикалык негизделиши

Азык чөйрөлөрүн даярдоонун рецепти

Эт-пептон кайнатмасын даярдоо (ЭПК). ЭПК нын суюк чөйрөсүндө көпчүлүк гетеротрофтук микроорганизмдер көбөйүшү мүмкүн. Кайнатманы даярдоо үчүн сөөгүнөн толук тазаланган уй эти, тарамышы жана майы колдонулат. 1л суу түтүкчөсүнөн алынган сууга 500г эт майдалагычтан өткөрүлгөн уй этин кошуп бир күн муздак жерге коюп коет. Бир күндөн кийин даки аркылуу чыпкалап, этин сыгып алып муздак суу банясына коюп коет. Андан кийин суу банясын кайнаганга чейин ысытып, кайнаган суу банясында эттин

эритмесин 1-2 саат кармайт да, андан кийин кебез же даки аркылуу чыпкалайт.

Кайнатмага 5 г аш тузун жана 10 г пептон кошот. Андан кийин эриген белокторду чөктүрөт, бул үчүн кайнатманы автоклавда 1 атмосферада 20 мүнөт кармайт.

Кайнатма тунук болуп жана белоктордун толук чөкмөгө түшүшү үчүн автоклавга коердон мурда кайнатмага 1 жумуртканын белогун суу менен бирдей катыштагы көлөмдө кошуп коет. Белок толук чөкмөгө түшкөндөн кийин кайнатманы кагаз (бүктөлгөн) чыпкалагычта чыпкалап, анын pH чөйрөсүн индикатор кагазы аркылуу текшерет. Көбүнчө кайнатма аз кычкыл реакцияны берет, ошондуктан бактерияларды өстүрүүгө жарабайт, ошол себептен 10 %-түү натрийдин бикарбонатын кошуп аз щелочтуу реакцияга чейин нейтралдаштырат. Мына ушулардан кийин кайнатманы колбага куюп, оозун кебез тыгын менен жаап, үстүнөн кагаз кийгизип, 1 атмосфера басымда 20 мүнөт стерилдейт. Кайнатманы чөктүргөндөн кийин деле өтө тунук түскө ээ болбойт. Мындай учурда коллоиддик бөлүкчөлөрдү кайрадан нейтралдаштырып чөктүрөт. Даяр болгон кайнатма таза, туптунук болуп, сары-янтарь түстө болушу керек. Бул ыкмалар менен кайнатманы даярдоо өтө татаал, узакка созулуучу процесс болгондуктан, кээде даяр кайнатма кубиктерин колдонууга да туура келет. Бул учурда 1 л сууга 2 кайнатма кубигин кайнатуу менен эритип кайнатуу жетишээрлик. Андан кийин кайнатманы кебез чыпка аркылуу чыпкалап, көрсөтүлгөн ыкмалар менен стерилдейт. Кайнатмага аш тузу кошулбайт, бирок pH чөйрөсү текшерилет. Жасалган тажырыйбалар көрсөткөндөй концентрациясы жогору болгон кайнатманы жасоо анчалык мааниге ээ эмес, анткени бул учурда культуралардын өсүүсү начарыраак болот.

Агарды тазалоо

Агардын составында микроорганизмдердин өсүшүнө терс таасирин тийгизүүчү ар түрдүү заттар кармалышы мүмкүн. Мисалы, май кислоталары бактерияларга уулуу зат катары таасирин тийгизет. Ошол себептен сатыкка келген агарды колдоноордун алдында жууп тазалайт. Бул үчүн кургак агарды дакиден жасалган баштыкчага салып, суу түтүкчөсүнө байлап, агын суунун алдына бир канча саат коюп коет. Эгерде түтүктөн агып жаткан суу катуу болсо, анда дистирленген сууну идишке куюп, ага агар салынган баштыкты салып, эки күн ичинде 10 жолу алмаштырат. Жуулган агарды жука катмар кылып жайып, бөлмө температурасында кургатат.

Эт-пептон агарды даярдоо(ЭПА).

ЭПА кандай температуралык шартта болбосун иштөөгө мүмкүн болгон, 100^0 С да эриген тыгыз, универсал чөйрө болуп саналат. ЭПА нын баштапкы сырьесу болуп ЭПК саналат. Даяр кайнатмага 2 % -түү агар кошуп оозу ачык идиште автоклавда ысытат. Ысык чөйрөнү азыраак щелочтуу чөйрөгө чейин 10 %-түү соданын эритмеси менен нейтралдаштырат. Коллоиддик бөлүкчөлөрдү жогорудагы ыкмалар менен чөктүрөт. Ысык пептонду бүктөмдөрү бар кагаз чыпка менен автоклавдан чыгаары менен чыпкалайт, анткени агар 40^0 С да катуулана баштайт. Чыпкаланган ЭПА ды колбага куюп, оозун кебез тыгын менен үстүнөн кагаз ороп жаап, автоклавда 1 атмосфералык басымда 20 мүнөт стерилдейт.

Эскертме. ЭПА ны чыпкалоо – жогорку температурада жүрүүчү узак процедура.

Эт-пептон желимди (желатинаны) даярдоо (ЭПЖ).

ЭПЖ — 25°С чейинки температурада эрүүчү катуу азык чөйрөсү, ошондуктан жогорку температурада өсүүчү микроорганизмдерди өстүрүүгө жарабайт. Бирок бул чөйрөнү протеолитикалык ферменттерди бөлүп алуу үчүн белгилүү бактериялардын түрлөрүн өстүрүүдө колдонулат. ЭПЖ ны даярдоодогу баштапкы сырье болуп ЭПБ саналат, ага 14—16% майда тууралган желим кошулат. Чөйрөнүн муздоо температурасы 24—26°С. Желимди кайнатмада 100^0 С га жетпеген температурада эритип, аз щелочтуу реакцияга чейин нейтралдап, белокторду чөктүрүү үчүн жумуртканы кошуу менен автоклавда 100^0 С да оозу ачык идиште кармайт. Мындан кийин чөйрөнү колбага чыпкалап (сактоо үчүн), же пробиркаларга куюп тиндализация ыкмасы менен стерилдейт. Желимди 100^0 С дан жогорку температурада ысытууга мүмкүн эмес, анткени бул учурда желим өзүнүн касиетин өзгөртүп, муздаткан учурда катыбай калат.

Жөнөкөй агарды даярдоо

Түтүктөн агуучу суудa агарды эритип, автоклавда стерилдейт. Суунун көлөмүнө жараша агарды 2 % - түү катышта алат. Агар толук эрип бүткөндөн кийин, аны белок менен түссүздөндүрүп, андан кийин ысык бойдон чыпкалайт. Чөйрөнү 1 атмосферада 20 мүнөт стерилдейт.

Чанактуулардан агар даярдоо

1 л сууда 100 г ак буурчакты же ак түстөгү чанактуулардан кайнатат. Чанактары ажырап же крахмал илээшкек (клейстерге) эритмеге айланып кетпестиги үчүн акырын кайнатуу керек. Кайнап

бүткөндөн кийин ысык түрүндө эритмени чыпкалайт (аны суюк азык чөйрөсү катарында колдонсо да болот). Буурчактын кайнатылган эритмесине 2 %- түү агар кошот. Агарды автоклавда эритип, коллоиддик бөлүкчөлөрүн чөктүрүп, чыпкалап, андан кийин стерилдейт.

Картөшкө чөйрөсүн даярдоо.

Картөшкө чөйрөсү гетеротрофтук микроорганизмдерди өстүрүү үчүн негизги азык заттарын кармаган азык катары кенири колдонулат. Чөйрөнү даярдоо үчүн зыянга учурабаган жакшы картөшкөнү тандап алып, эгерде микроорганизмдин культурасын Петринин чөйчөгүнө эге турган болсо, анда жука кылып туурайт. Эгерде культураны пробиркада өстүрө турган болсо, анда картөшкөдөн цлиндр формасындагы кесиктерди кесип алып, андан кийин аны эки бөлүк кылып пробиркага жайгаштырат.

Кычкыл чөйрөдөн нейтралдаштыруу үчүн картөшкөнүн бөлүкчөлөрүнө борду ($CaCO_3$) майдалап кошот, андан кийин Петринин чөйчөгүнө же пробиркага салат. Петринин чөйчөгүнүн түбүнө чыпка кагазын салат, ал эми пробирканын түбүнө кайнатуу учурунда пайда болгон сууну синирип алышы үчүн кебезден азыраак бөлүкчө салып коет. Эгерде чөйрө пробиркаларда көпкө чейин сактоо үчүн эсептелген болсо, анда кебездин алдына азыраак өлчөмдө суу куюп коюлат, анткени көпкө сактоодо картөшкө кургап калат. Чөйрөнү 1 атм. басымда 30 мүнөт стерилдейт.

Эскертме. 1. Чөйрөнү тез арада стерилдөө керек, анткени картөшкө тез карарып кетип, иштөөгө жараксыз болуп калат. Ысытканда ферменттер бузулуп, картөшкө карарбай калат.

2. Стерилдөө режимин толук сактоо керек. Жетишсиз стерилдөөдө картөшкөдө дайыма кезигүүчү бактериялардын туруктуу споралары сакталып, алар өсүп, башка продуктаны пайда кылышы мүмкүн.

Пиво сусласын жана сусло-агарды даярдоо

Пиво ачытуучу заводдон алынган, ачытылбаган пиво суслосун 6-7° С суудa Балингдин ыкмасы боюнча эритип, көптөгөн микроорганизмдерди өстүрүү үчүн колдонулат. Сусло-агардын (СА) тыгыз чөйрөсүн алуу үчүн пиво суслосуна 2 %-түү агар кошот. Аны автоклавда оозу ачык идиште кайнатат. Сусло-агар сүт кычкыл бактериялары жана ачыткычтар үчүн эн жагымдуу чөйрө болуп саналат. Даяр сусла жок болуп калган учурда угуттун чөйрөсүн колдонууга болот. Аны төмөндөгүдөй ыкмада даярдашат. Арпанын данын клейге окшоп калганга чейин өстүрүп, андан кийин аны 60—70 °С температурада кургатып, кофе майдалагычтан өткөрөт.

1 л сууну 50°С чейин ысытып, ага аралаштыруу менен 250 г майдаланган угутту кошот. Сууда ысытпастан 30 мүнөт коюп коет, андан кийин сууну 55-58°С чейин ысытат. Убакыт өткөн сайын эритмеден крахмалга үлгү алып турат (иоддук үлгү). Качан гана алынган үлгү крахмалдын толук ажырагандыгын көрсөткөндөн кийин, суслону чыпкалап, 1-2 атмосфералык басымда 30 мүнөт стерилдейт (даяр суслону дагы ушундай стерилдейт). Белгилей кетүүчү нерсе, ачыткычтарды өстүрүү үчүн 6—8%, ал эми сүт кычкыл бактериялары үчүн - 8—12% кант кармаган сусло керектелет.

Ошондуктан колдонуучу суслонун курамындагы канттын кармалышын аныктоо керек.

Сүттү азык чөйрөсү катары даярдоо

Сүт гетеротрофтуу микроорганизмдерге зарыл болгон бардык азык заттарды кармайт. Чөйрөнү даярдоо үчүн пробиркага 10 мл өлчөмдө куюп, аны кебез тыгын менен оозун жаап, андан кийин тиндализация ыкмасы менен стерилдейт.

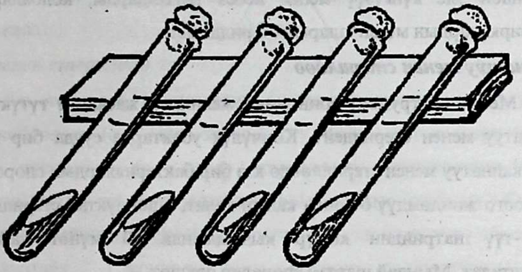
Сүттү жогорку температурада стерилдөөдө сүт кантынын карамелденүүсүнө алып келет. Сыртынан караганда бул сүттүн түсүнүн өзгөргөндүгү менен байкалат (бышырылган сүт). Микроорганизмдер менен кислотанын пайда болгондугун аныктоо үчүн, стерилдөөдөн мурда сүткө 5 %-түү лакмустун эритмесинен азыраак өлчөмдө кошуп коет. Мында пайда болгон кислота сүттүн ирип кеткендиги менен эле эмес, чөйрөнүн кызгылт түскө өткөндүгү менен байкалат.

Азык чөйрөлөрдү куюштуруу

Азык чөйрөлөрүн көбүнчө чон көлөмдөгү колбаларда даярдашат. Иш баштаардан мурда даярдалган азык чөйрөсүн керектөөсүнө жараша пробиркаларга же Петринин чөйчөкчөсүнө куят. Катуу азык чөйрөлөрүн куюштураардан мурда эритет. Агарды автоклавда ачык идиште же суу банясында эриткенге ыңгайлуу. Желим (желатина) суу банясында 25—30°С чейин ысытканда эле оной эрийт. Эритилген чөйрөнү стерилдүүлүктү сактоо менен керектүү көлөмдөгү идиштерге куят. Чөйрөнү колбага куюп жатканда моюнун жалынга тосуп, андан кийин кебез тыгынды да жалынга тосуп стерилдегенден кийин гана колбанын оозун жабат.

Иштеп жаткан учурда тыгынды он колдун аты жок менен чыпалактын ортосунда кармап турат. Пробиркага чөйрөнү куйгандан кийин (чөйрөнүн сакталышына жараша) төмөндөгү ыкмалардын бири менен стерилдейт. Эгерде түз формадагы агарды

же желимди алуу керек болсо, пробирканы штативге жайгаштырат, ал эми кыйгач формадагы агарды алуу үчүн кандайдыр бир койгучка кыйгачынан кылып, пробирканын асты жагынан 1 см, үстүнкү жагынан 3-4 см калгандай кылып жайгаштырат (2-сүрөт).



2-сүрөт. Кыйгач формадагы агары бар пробиркалар. Кыйгач формадагы агарды алуу үчүн пробиркаларды жайгаштыруу.

Азык чөйрөлөрүн жана идиштерди стерилдөө ыкмалары

Микроорганизмдерге сырткы шарттардын таасиринин негизинде, микробиологиялык практикада, микроорганизмдерди өлүмгө алып келүүчү ар түрдүү ыкмалар иштелип чыгылган. Мындай ыкмалардын бири-стерилдөө болуп саналат.

Стерилдөөдө микробиологиялык лабораторияда колдонулуучу азык чөйрөлөрүндөгү, идиштердеги ж.б. инструменттердеги микроорганизмдерден жана алардын спораларынан толук тазалоо жүргүзүлөт. Аларды көбүрөөк жогорку температуранын таасиринде стерилдөө колдонулат.

Жалынга күйгүзүп стерилдөө

Чоң эмес айнек (айнек таякча, шпатель) жана метал предметтерин (ийнелерди, иймектерди, пинцет, бычактарды-скальпель) бир канча жолу жалынга тосуп күйгүзүп стерилдейт. Ошондой эле күйгүзүү менен кебез тыгындарды, колбалардын, пробиркалардын моюнчаларын стерилдешет.

Кайнатуу менен стерилдөө

Метал инструменттерин жана желимден жасалган түтүктөрдү кайнатуу менен стерилдейт. Көпчүлүк убактарда сууда бир канча саат кайнатуу менен стерилдөөдө кээ бир бактериялардын споралары жашоого жөндөмдүү боюнча калып калат, ошондуктан стерилдөөнү 2% -түү натрийдин көмүр кычкылында 10 мүнөт кайнатуу сунушталат. Мындай шартта споралар өлүшөт.

Кургак ысык менен стерилдөө

Кургак ысык менен көбүнчө айнек идиштерди стерилдешет. Мында пробиркаларды, колбаларды алдын ала кебез тыгын менен жабат. Стерилденген идиштерди аба аркылуу жугуучу микрофлоралардан сактоо үчүн стерилдөөдөн мурда кагазга ороп, иштөө алдында гана кагаздан чыгарат.

Пипеткаларды туурасы 2,5—3,0 см болгон кагаздын кесиндилерине ороп, арка жагына кебез тыгып, андан кийин стерилдөөгө берет. Капиллярдык учун 45^0 ка кыйгачтатып спирал түрүндө кагазга оройт.

Петринин чөйчөгүн төрт бурчтук формасында кагазга оройт. Петринин чөйчөгүн кагаздын ортосуна коюп, эки жагынан жогору карай бүктөйт да, четинен эки жолу тигиш кылып бүктөйт. Эки бош жагын төмөн карай бүктөйт. Мындай бүктөгөн учурда чөйчөктүн жогору-төмөн жагын оңой айырмалоого болот. Мындай ыкмалар

менен даярдалган идиштерди кургатуучу шкафка салып, 160⁰—170°С температурада 2 саат ысытат. Мындай ысытууда бактериялар гана өлбөстөн, алардын споралары да өлөт. Кургатуучу шкафтагы температураны 175°С дан жогорулатууга мүмкүн эмес, анткени кебез тыгындар күрөн тартып, ал эми орогуч кагаз сына турган абалда болуп калат.

Буу менен стерилдөө

Бөлүп стерилдөө, же тиндализация кургак ысытуудан бузулуучу азык чөйрөлөрү (сүт, угут, желим), суу, желим түтүкчөлөрү жана башка предметтер буу менен стерилденет. Стерилдөөнү Коха кайнаткычында же автоклавда оозу ачык идиште жүргүзөт. Сууну кайнаганга чейин ысытат, пайда болгон буу стерилденүүчү объектти толук каптайт. Стерилденүүчү азык чөйрөнүн температурасы 100° С чейин жетет. Чөйрөнү 30-45 мүнөт ысытканда бактериялардын вегетативдик клеткалары өлөт, бирок алардын споралары өлбөйт. Кийинки күнү ысытууну кайталайт. Бул учурда өсүп келе жаткан споралардын вегетативдик клеткалары өлөт. Стерилдөөнү толук жүргүзүү үчүн суюктукту экинчи күнгө калтырып, андан кийин кайрадан ысытат. Мындай стерилдөө бөлүп стерилдөө же тиндализация деп аталат.

Пастерилдөө

Суюктуктарды пастерилдөөдө, аларды 100°С чейинки температурада кайнатат. Анын максаты - суюктуктардагы споралары менен көбөйүүчү микроорганизмдерди жок кылуу (сүт, пиво, вино ж.б). Пастерилдөө суюктуктарды 60°С 30 мүнөт, же 75°С 15 мүнөт, же 80°С 10 мүнөт кайнатуу менен жүргүзөт.

Муздак стерилдөө

Кайнатууга мүмкүн болбогон органикалык суюктуктарды бактериялардан тазалоо үчүн стерилденген тыгыз тешикчелүү даки аркылуу өткөрөт. Бул чыпкалар микроорганизмдерди кармап калат да, аларды бактериалдык чыпкалар деп аташат.

Бактериалдык чыпкалар ар түрдүү номерде болушат. №1 чыпкасынын тешикчелеринин орточо диаметри 0,3 мкм, булар көбүрөөк маанилүү. №5 чыпкасынын диаметри 1,2 мкм барабар.

Мембраналык чыпкаларды колдоноордон мурда кайнатуу менен стерилдейт. Чыпкаларды жылуу дистирленген сууга салып 2-3 жолу алмаштыруу менен 30 мүнөт кайнатат.

Автоклавда басым астында буу менен стерилдөө.

Азык чөйрөлөрүн жана керектелүүчү каражаттарды микрофлоралардан тазалоодо ишенимдүү жана универсалдуу ыкма – басым астында каныккан буу менен стерилдөө. Бул ыкманы автоклавда атмосфералык басымдан жогорку басымда каныккан буу менен ысытат. Каныккан буу муздак объектке тийгенде, ал конденсацияланып, сууга айланат. Конденсация учурунда көп сандаган жылуулук бөлүнүп чыгып, стерилденүүчү объекттин температурасы тез жогорулай баштайт.

Азык чөйрөсүнүн толук стерилдениши 120°С да 1 атм. басымда 20 мүнөт жүргүзүлөт.

Лабораториялык жумушту аткаруунун ирээттүүлүгү

1. Ар түрдүү азык чөйрөлөрүн даярдоону жана алардын курамын үйрөнүү.

2. Көрсөтүлгөн ыкма боюнча 2-3 азык чөйрөлөрүн рецепт боюнча даярдоо.

3. Автоклавды пайдалануу менен азык чөйрөлөрүн куюштуруп стерилдөө.

Текшерүү үчүн суроолор:

1. ЭПБ, ЭПА, ЭПЖ, СА-кыскартылган сөздөрдү чечмелегиле.
2. «скошенный агар» деген эмне?
3. Стерилдөө деген эмне?
4. Азык чөйрөлөрүн жана лабораториялык идиштерди стерилдөөдө, стерилдөөнүн кандай ыкмаларын силер билесинер жана кайсы түрүн көбүрөөк колдоносунар?

Лабораториялык жумуш № 3

Тема: Микробдук клеткалардын түзүлүшү

Сабактын максаты: прокариоттук бактериалдык жана эукариоттук жаныбар клеткаларын үйрөнүү.

Керектелүүчү материалдар жана каражаттар: Микроскоп, эукариоттук жана прокариоттук клеткалардын схемалары.

Иштин теоретикалык негизделиши

Прокариоттор жана эукариоттор

Бардык тирүү организмдер негизги эки группага бөлүнүшөт: прокариоттор жана эукариоттор. Бул классификациянын негизинде көптөгөн структуралык айырмачылыктар жатат, алардын ичинен негизгилери болуп төмөнкүлөр саналат:

1) ядронун болушу же жок болушу, ДНК нын хромосомасын кармашы;

2) клеткалык кабыктын химиялык курамы жана түзүлүшү;

3) субклеткалык цитоплазматикалык органеллалардын бар же жок болушу.

Прокариоттук, мисалы бактериалдык клеткаларда ДНК нын хромосомалары тийиштүү түрдө цитоплазмада жайгашат, клетка хитин же целлюлоза менен эмес, курамы пептидогликандан турган ригиддик клеткалык кабык менен курчалган, клеткада субклеткалык цитоплазматикалык органеллалар жок.

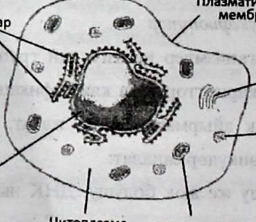
-Эукариоттук клеткаларда ядролук мембрананын цитоплазмасынан бөлүнүп турган ядросу болот, хромосомдук ДНК ядродо жайгашат;

-эгерде клеткалык кабык бар болсо, анда ал хитинди же целлюлозаны кармашы мүмкүн, бирок пептидогликан эмес;

-цитоплазмада ар түрдүү субклеткалык органеллалар кармалат (митохондриялар, Гольджи аппараты, өсүмдүктөрдүн клеткаларында хлоропласттар) (3-сүрөт).

А

Б



3-сүрөт. Прокариоттук бактериалдык (А) жана эукариоттук жаныбар клеткаларынын (Б) схематикалык көрүнүшү.

Бактериялардын морфологиясы. Бактерияларды микроорганизмдердин көбүрөөк жалпыланган ар түрдүү топтору түзөт. Бактериялар негизинен клеткалардын жөнөкөй бөлүнүү жолу менен көбөйүүчү бир клеткалуу организмдерди чагылдырат. Морфологиялык жактан бактериялар формасы, чондугу, клеткалардын бири-бирине жайгашышы боюнча, мурутчаларынын жана капсулаларынын болушу же жок болушу, клеткаларынын спораларды пайда кылуу жөндөмдүүлүгү менен айырмаланат ж.б.

Формасы боюнча бактериялар үч топко бөлүнүшөт: шар формасындагы, таяк сымал жана ийилген. Шар түрүндөгү бактериялар — коккилер (*Coccus*). Клеткалардын бөлүнүшү жана жайгашуу мүнөздөрү шар түрүндөгү бактерияларды бөлүп алууда негизги систематикалык белгилери катары колдонулат.

Коктордун диаметри 0,5- 1,2 мкм. Моно- же микрококтор (*Micrococcus тукумундагылар)*. Алардын клеткалары бардык шартта бөлүнө баштайт жана бөлүнөр замат бирден болуп жайгашат. Диплококтор (*Diplococcus тукумундагылар*) жана стрептококтор (*Streptococcus тукумундагылар*) бирдей түзүлүштө клеткалар бөлүнө баштаганда пайда болот; диплококтордо клеткалар экиден болуп жайгашышат, ал эми стрептококтордо чынжыр түрүндө байланышат.

Тетракоктор (*Tetracoccus тукумундагылар*) клеткалардын бөлүнүшүндө бири-бирине перпендикуляр жайгашкан 4 особдогу топту пайда кылат.

Escherichia coli. Escherichia coli бактериясы — бул жакшы изилденген организмдердин бири. Акыркы элүү жылда анын генетикасы, молекулярдык биологиясы, биохимиясы, физиологиясы жана жалпы биологиясы жөнүндө өтө кенири билдирүүлөрдү алууга

мүмкүн болду. Бул чондугу 1 мкм дан ашпаган патогендүү эмес, кыймылдуу таякча түрүндөгү организм. Анын кенири таралган чөйрөсү болуп адамдардын ичегиси саналат. Андан башка топурактан жана суудан табууга болот.

Na^+, K^+, Mg^{2+}, Ca^{2+}, NH_4^+, Cl^-, HPO_4^{2-} и SO_4^{2-} иондорун, микроэлементтерди жана көмүр атомдорун (мисалы, глюкозаны) кармаган чөйрөлөрдө гана жөнөкөй бөлүнүү жолу менен көбөйөт, азыркы күндө *E. coli* илимий изилдөөнүн негизги объектиси болуп калды. *E.coli* микроорганизминин культурасын аминокислоталар, витаминдер, туздар, микроэлементтер жана көмүртектин булагы бар байытылган суюк азык чөйрөсүндө өстүрүүдө, генерация убагы (б.а. бактериялардын пайда болушу жана алардын бөлүнүшү) логарифмикалык өсүү фазасы 37^0 С да 22 мүнөттү түзөт.

Бардык тирүү организмдердин өсүшүндө жана көбөйүшүндө белгилүү температуралык интервал болот. Өтө жогорку температурада белоктордун денатурациясы (структурасынын бузулуусу) жана башка маанилүү клеткалык компоненттердин ажыроосу жүрүп, натыйжада клетканын өлүмгө дуушар болуусу күтүлөт. Ал эми өтө төмөнкү температурада баарыбызга белгилүү болгондой биологиялык процесстер төмөндөйт же структуралык өзгөрүүгө учуроо менен биротоло токтойт. Температурага туруктуулугу боюнча микроорганизмдерди төмөндөгүдөй кылып бөлүүгө болот: термофилдер (45 - 90°С чейин, андан жогору), мезофилдер (10 - 47 °С чейин) жана психрофилдер, же психротрофтор (-5 - 35 °С чейин). Белгилүү диапазондогу температурада өскөн микроорганизмдер биотехнологиялык ар түрдүү пайдалуу тапшырмаларды чечүүнүн куралы катары кызмат кылышат. Мисалы, термофилдер көпчүлүк учурда гендин булагы

катары кызмат кылат, температурага туруктуу болуп өндүрүштүк жана лабораториялык процесстерде колдонулат, ал эми генетикалык жактан түрү өзгөртүлгөн психротрофторду топурактардын, суулардын курамында кармалуучу уулуу таштандыларды төмөнкү температурада биодеградациялоодо колдонулат.

E. coli ни аэробдук (кычкылтектин катышуусунда), жана анаэробдук (кычкылтексиз) шарттарда өстүрүүгө болот. Ошондой болсо да, рекомбинанттык белоктордун оптималдык продукталарын алуу үчүн *E. coli ни* ж.б. микроорганизмдерди көбүнчө аэробдук шартта өстүрүшөт. Эгерде бактерияларды өстүрүүнүн максаты белгилүү белокту синтездеп жана бөлүп алуу болсо, анда культураны татаал курамдагы суюк азык чөйрөсүндө колбада өстүрүшөт. Керектүү температураны кармоо үчүн жана культуралдык чөйрөдө жеткиликтүү аэрацияны камсыз кылуу үчүн колбаны суу банясына же температура сакталган бөлмөгө коюп, тынымсыз аралаштырылып турат. Мындай аэрациялоо клеткалардын көбөйүүсү үчүн жетиштүү, бирок белоктордун синтези үчүн дайыма керектелбейт. Клеткалардын салмагынын өсүшү жана белоктун продуктасы азык чөйрөдө көмүртектин булагы же азот жетишсиз болуп, эриген кычкылтек көбөйүп кеткенде азая баштайт. Белоктун продукциясынын максималдык оптималдуулугу үчүн шарттарды түзүүдө атайын ферментерлорду жасап, белгилүү аэрацияны түзөт.

Saccharomyces cerevisiae. Saccharomyces cerevisiae ачыткычтары – булар клеткаларынын диаметри 5 мкм болгон, патогендүү эмес бир клеткалуу микроорганизмдер, көпчүлүк учурда эукариоттордун аналогу болгон *E. coli* ни чагылдырат. Алардын генетикасы, молекулярдык биологиясы жана метаболизмдери деталдуу түрдө үйрөнүлгөн. *S. cerevisiae* бөлүнүү жолу менен көбөйөт жана *E. coli*

сыяктуу эн жөнөкөй чөйрөдө жакшы өсөт. Алар канттты этанолго айландыруу жөндөмдүүлүгүнө ээ болгондуктан, байыртадан эле алкоголдук суусундуктарды жана нан жасоодо кенири колдонулуп келген. Азыркы учурда бүткүл дүйнөдө жылына 1 млн. тоннадан ашык *S. cerevisiae* ачыткычы керектелет. *S. cerevisiae* ачыткычы илимий чон кызыкчылыкка ээ. Булар башка эукариотторду окуп үйрөнүүдө ыңгайлуу модель катары кызмат кылат, анын ичинде адамдарды, анткени *S. cerevisiae* нин клеткасынын бөлүнүшүн регуляциялоодо жооптуу болгон көптөгөн гендер адамдардын генине окшош. Бул ачылыш адамдардын генин идентификациялоого жана мүнөздөөгө мүмкүнчүлүк берди. Ачыткычтардын кенири колдонулуучу генетикалык системасы (жасалма хромосома) адамдардын ДНК сын үйрөнүүдөгү бардык изилдөөлөрдө үзгүлтүксүз катышуучу болуп саналат. 1978-жылы *S. cerevisiae* ачыткычынын толук нуклеотиддик катыштардын хромосомаларынын жыйындысы аныкталып, андан кийин да бул микроорганизмдин баасы илимий изилдөө үчүн андан ары өстү. Мындай иштер эукариоттор үчүн биринчи жолу аткарылган.

Бактериялык клеткалардан синтезделип бөлүнүп алынган эукариоттук белок, белоктук молекулага төмөнкү молекулалуу кошулмаларды кошуп алуу менен көбүрөөк ферментативдик модификациялоого дуушар болот, көпчүлүк учурда бул белокторду туура функционалдаштыруу үчүн керектелет.

Тилекке каршы, *E. coli* ж.б. прокариоттор бул модификацияны жүргүзүүгө жөндөмсүз, ошондуктан нормалдуу эукариоттук белокторду алуу үчүн *S. cerevisiae* жана *Kluyveromyces lactis, Saccharomyces diastaticus, Schizisaccharomyces pombe, Yarrowia lipolytica, Pichia postons, Hansenula pofymorpha* ачыткычтарынын

түрлөрү колдонулат Рекомбинанттык белоктун эффективдүү продуценти болуп *P. pastoris жана H. Polymorpha* культуралары саналат.

Эукариоттук клеткалардын культуралары

Эукариоттук клеткалардын типтеринин бардык айырмачылыктары курт-кумурскалардын, өсүмдүктөрдүн жана сүт эмүүчүлөрдүн клеткаларын өстүрүүдө жалпы методикалык колдоого ээ. Биринчи берилген организмдин тканынан азыраак өлчөмдө алып, аны клетка аралык материалдардын белокторун ажыратуучу протеолитикалык ферменттер менен иштетип (өсүмдүк клеткалары менен иштөөдө, клеткалык кабыкты бузуучу атайын ферменттерди кошот). Бөлүнүп алынган клеткаларды татаал курамдагы аминокислоталардан, антибиотиктерден, витаминдерден, туздардан, глюкозадан ж.б. өстүрүүчү факторлордон даярдалган азык чөйрөсүнө жайгаштырат. Мындай шартта клетка өстүрүлгөн идиштин дубалдарында клеткалык катмар пайда болгонго чейин клеткалар бөлүнө баштайт. Эгерде мындан кийин клетканы жаны даярдалган азык чөйрөсүнө которбосо, анда клетканын өсүүсү токтойт. Көбүнчө биринчилик клеткалык культурадан 50-100 клетка которулат, андан кийин клеткалар бөлүнүү жөндөмдүүлүгүн жоготуп, өлө башташат.

Өстүрүлгөн клеткалар биринчилик материалдын клеткасындагы кээ бир касиеттерин сакташат, ошондуктан аларды ар түрдүү ткандардын биохимиялык касиеттерин үйрөнүү үчүн колдонууга мүмкүн.

Көбүнчө азык чөйрөдө өстүрүүдө кээ бир клеткалар генетикалык өзгөрүүгө учурашат, натыйжада алардын өсүшү тездейт. Мындай культуралардын клеткалары селективдүү мааниге ээ болуп, in vitro

чексиз өсүүсүнө жөндөмдүүлүгү артып туруктуу клеткалык сызык деп аталат. Бир клеткалык сызыктар кадимки клетканын негизги биохимиялык касиеттерин сактайт, башкалары мындай касиетке ээ эмес. Көпчүлүк чеги жок өсүүгө жөндөмдүү болгон клеткаларда, белгилүү хромосомалык өзгөрүүлөргө учурайт, мисалы бир хромосоманын саны өсүп кетип, а экинчиси жоголуп кетиши белгиленген. Молекулалык биотехнологияда туруктуу клеткалык сызыктар клондоштурулган ДНК нын молекулалары менен коддолуп, кээде вирустардын көбөйүүсү жана белокторду бөлүп алуу үчүн колдонулат. Мындан башка, алар чон көлөмдөгү вакциналарды жана рекомбинанттык белокторду өндүрүү үчүн колдонулат.

Лабораториялык жумушту аткаруунун ирээттүүлүгү

1. Прокариоттук бактериалдык клеткалардын жана эукариоттук жаныбарлар клеткаларынын түзүлүшүн үйрөнүү.
2. Прокариоттук жана эукариоттук клеткаларды салыштырмалуу мүнөздөө.
3. Прокариоттук жана эукариоттук культуралардын клеткалары менен таанышуу.

Текшерүү үчүн суроолор:

1. Прокариоттор деп эмнени айтабыз?
2. Эукариоттор деп эмнени айтабыз?
3. *Escherichia coli* бактериясынын негизги касиеттери кайсылар?
4. *S. Cerevisiae* ачыткычынын негизги касиеттери кайсылар?

Лабораториялык жумуш № 4

Тема: Микроорганиздердин өсүүсүн үйрөнүү

Сабактын максаты: микроорганизмдердин өсүү жана өөрчүү өзгөчөлүктөрүн үйрөнүү.

Керектелүүчү материалдар жана каражаттар: агарда өстүрүлгөн микроорганизмдердин культуралары, колбалар, Петри чөйчөгү, микробиологиялык иймек, спиртте күйүүчү шам, этил спирти, микроорганизмдердин өсүшү жана өөрчүшү үчүн азык чөйрөлөрү.

Иштин теоретикалык негизделиши

Жагымдуу азык чөйрөдө, pH жана температура оптималдуу болуп, аба жеткиликтүү санда берилсе микроорганизмдер культуралдык суюктукта продуценттин биомассасын жана биологиялык баалуу метаболиттерди топтоо менен тез өсүп, көбөйүшөт.

Микроорганизмдерди суюк азык чөйрөсүндө өстүрүүнүн эки ыкмасы бар: мезгилдүү жана үзгүлтүксүз.

Культураларды мезгилдүү өстүрүүдө азык чөйрөгө продуценттин баштапкы культурасынан эгилет, андан кийин микроорганизмдер белгилүү шартта популяциянын өсүүсүнүн жана өөрчүшүнүн бардык стадияларын басып өтөт. Өстүрүү процесси аяктагандан кийин, культураны өстүрүүчү идишти бошотуп, спораларды өстүрүү циклы кайрадан башталат. Өстүрүүнүн мындай ыкмасында же азык заттарынын жетишсиздигинен же чөйрөдө уулуу заттардын көп топтолушунан биомассанын өсүү ылдамдыгы дайыма нөлгө умтулуусу керек. (эгерде кандайдыр бир компонент процесске катышпай же андан чыга албай калса, муну «жабык» система деп атоого болот).

Микроорганизмдерди мезгилдүү ыкма менен өстүрүүдө дайыма кээ бир туруксуз системалардын жаралышы күтүлөт.

Ал эми үзгүлтүксүз өстүрүүдө микроорганизм дайыма азык чөйрөсүнүн жаңы бөлүктөрүн алып турат, а аппараттан болсо үзгүлтүксүз түрдө пайда болгон метаболиттер менен кошо биомасса алынып турат (өстүрүүнүн мындай ыкмасын «ачык система» деп атоого болот).

Үзгүлтүксүз ыкмада өстүрүүдө микроорганизмдерге азык чөйрөсүнүн жетишсиз болушу мүмкүн эмес, анткени биомассанын чыгышы азык чөйрөсүнүн тынымсыз келип түшүшүнөн көз каранды, андан башка культура зат алмашуудан бөлүнүп чыккан уулуу заттар менен ууланбайт. Ошондуктан культураларды үзгүлтүктүү ыкма менен өстүрүүгө караганда, үзгүлтүксүз ыкма менен өстүрүү бир кыйла перспективдүү.

Микроорганизмдердин өсүү жана өөрчүү өзгөчөлүктөрү

Микроорганизмдердин популяциясын мезгилдүү терең ферментация ыкмасында өстүрүүдө өсүүнүн жети баскычын (фазасын) басып өтөт (4-сүрөт). Кээде клеткалардын өсүү диаграммасында клеткалардын саны N логарифмикалык убакыттан көз каранды экендигин τ: $\lg N = f(\tau)$ көрүүгө болот.

I - фаза – лаг-фаза деп аталат. Бул мезгилде культура жаңы чөйрөгө адаптация ала баштайт (көнө баштайт). Клеткалардын ферментативдик системалары активдешип, нуклеин кислотасынын саны көбөйүп, клетка белоктордун жана башка кошулмалардын интенсивдүү синтезделишине даярдык көрө баштайт. Бул фазанын узактыгы микроорганизмдердин физиологиялык өзгөчөлүктөрүнөн, эгүүчү жана өндүрүштүк чөйрөлөрдүн курамынан, өстүрүү шарттарынан көз каранды болот. Бул айырмачылыктар канчалык аз

болсо, эгүү дозасы көбүрөөк болуп, өсүүнүн I-фазасы ошончолук кыска болот.

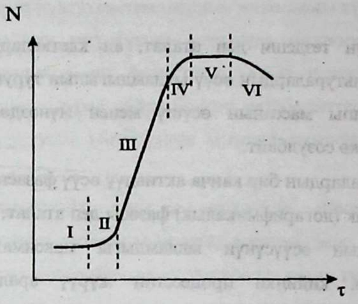
II - фаза – өсүүнүн тездеши деп аталат, ал клеткалардын баштапкы бөлүнүшү, культуралардын өсүү ылдамдыгынын туруктуу жогорулашы жана жалпы массанын өсүшү менен мүнөздөлөт, көбүнчө бул процесс көпкө созулбайт.

III - фаза – бул клеткалардын бир канча активдүү өсүү фазасы, ал өсүүнүн экспоненциалдык (логарифмикалык) фазасы деп аталат. Бул мезгилде культуралардын өсүүсүнүн ылдамдыгы максималдуу болгондугу белгиленип, кийинки процесстин жүрүү аралыгы туруктуу болот. Ал эми клеткалардын өсүү логарифми убакыттан көз каранды.

Культуралардын интенсивдүү өсүшүндө, ошондой эле интенсивдүүлүктөгү азык заттары керектелет. Микроорганизмдердин клеткалары жүргүзгөн анаболитикалык жана катаболитикалык процесстердин натыйжасында чөйрө жакырдана баштайт, бул учурда өсүп жаткан организм үчүн продукталар топтолот. Клеткалардын өсүшү менен азык заттарынын келип түшүүсү начарлап, чөйрө менен болгон байланыш азайып, өсүү аянты тарып, метаболитикалык продукталар жана клеткалар бири-бирине жолтоо боло баштайт. Өсүү ылдамдыгы азаят, клеткалардын бөлүнүшү токтойт, өсүүнүн ылдамдыгынын төмөндөшү деген IV- фаза келет.

Өсүүнүн V – фазасы стационардык деп аталат. Бул фазада тирүү клеткалардын саны жана биомассаны топтошу максималдык деңгээлге жетет. Бул этапта жаңыдан пайда болгон клеткалардын саны, өлгөн клеткалардын санына барабар болот. Кайсыдыр мезгилде бул тең салмактуулук бузулат жана өлгөн клеткалардын саны жаңы пайда болгон клеткалардын санына караганда көп болот.

Андан кийин VI фаза –өлүү фазасы келет.



4-сүрөт. Микроорганизмдерди мезгилдүү өстүрүүдөгү өсүү диаграммасы:

I – лаг-фаза; II – өсүүнү тездетүүчү фаза; III – экспоненциалдык өсүү фазасы; IV – өсүүнүн төмөндөө фазасы; V –стационардык фаза; VI – культуралардын өлүү фазасы

Бул фазада популяциянын өөрчүү жана өсүү циклы аяктайт. VII фазада жабык системада микроорганизмдердин өлүшү мүнөздөлөт. Бул баскычта тирүү клеткалардын массасы кескин түрдө азаят, анткени запастагы клеткалар түгөнөт.

Эгерде өстүрүүнүн мезгилдүү процессинде продуценттин биомассасын алуу тапшырмасы коюлса, анда культуралардын өсүүсү стационардык фазага өткөнгө чейин процессти рационалдуу жүргүзүү керек. Эгерде өндүрүштө метаболизмдин продукталары алынса, анда процесстин акырында бул метаболиттин топтолушу, ал логарифмикалык, стационардык же өлүү фазасы менен дал келгендиги аныкталат.

Белоктук заттардын продуценттерин мезгилдүү ыкма менен өстүрүү, эгүүчү материалдардын кээ бир этаптарында жана аминокислоталарды микробиологиялык өндүрүштө алууда колдонулат.

Белоктук заттарды жана липиддерди өндүрүүдө микроорганизмдерди өстүрүүнүн үзгүлтүксүз ыкмасы колдонулат.

Культураларды үзгүлтүксүз ыкма менен өстүрүүдө, культура дайыма кандайдыр бир өсүү фазасында кармалып турат. Эгерде өндүрүштүн максаты-продуценттин биомассасын алуу болсо, процесстин режими рационалдык түрдө логарифмикалык фазада болуп, качан микроорганизм популяциянын өсүү ылдамдыгын максималдык камсыз кылууга жөндөмдүү болгон учурда ишке ашат.

Мындай процессти даяр культуралардын жана курамы балансыланган азык чөйрөлөрүнүн агымы бир аппаратта дайыма берилип турган учурда жүргүзүүгө мүмкүн. Талап кылынган режим аныкталгандан кийин, кийинки аппаратта жүргүзүлүүчү процесстер үчүн система туруктуу бойдон кала берет. Эгерде микроорганизмдерди метаболиттерди алуу максатында гана өстүрүү керек деп эсептелсе, анда анын биомассада топтолушу өсүүнүн логарифмикалык фазасына туура келбейт, ошондуктан эки же бир нече бири-бирине туташкан аппараттар колдонулат, анткени койгон максатты ишке ашыруу үчүн бул процессти бир канча баскычтарга бөлүү керек.

Ар бир аппаратта процесстин параметрлери туруктуу болот, бирок алар аппараттан аппаратка өткөндө бири-биринен айырмаланып турушат. Мындай өстүрүүнүн үзгүлтүксүз ыкмасында биринчи аппаратта гана азык чөйрөсү берилип, акыркы аппараттан даяр продукт алынат.

Лабораториялык жумушту аткаруунун ирээттүүлүгү

1. Микроорганизмдердин өсүү жана өөрчүү баскычтарын үйрөнүү.

2. Лабораториялык шартта микроорганизмдердин (бактериялар жана ачыткычтар) өсүүсүнүн жана өөрчүшүнүн бардык баскычтарын көзөмөлдөө.

3. Ачыткычтардын жана бактериялардын өсүү, өөрчүү өзгөчөлүктөрүн салыштырмалуу мүнөздөө.

Текшерүү үчүн суроолор:

1. Суюк азык чөйрөсүндө микроорганизмдерди өстүрүүнүн кандай ыкмалары бар?
2. Мезгилдүү суюк азык чөйрөсүндө өстүрүүдө микроорганизмдердин кандай өсүү фазалары жүрөт?
3. Терен ферментация процессинде микроорганизмдердин популяциясынын ар бир өсүү фазаларын мүнөздөгүлө?

Лабораториялык жумуш № 5
Тема: Эгүүчү материалдардын таза культураларын алуу

Сабактын максаты: Эгүүчү материалдардын таза культураларын алуунун ыкмаларын үйрөнүү

Керектелүүчү материалдар жана каражаттар: микроорганизмдердин споралары, агардан даярдалган чөйрөсү бар пробиркалар, крахмал, вазелин майы, картөшкө-мальтоздук агар, глицерин.

Иштин теоретикалык негизделиши

Микроорганизмдердин таза культуралары-эгилүүчү материал деп аталат. Таза культураны биринен экинчисине кайра-кайра эгүү жолу менен пробиркадан колбага, андан чон көлөмдөгү аппараттарга эгип, андан өндүрүштүк ферментаторлорго же негизги продуценттердин культураларынын спораларын өстүрүп кармап туруучу ферментаторлорго берилет. Эгилүүчү материалдар төмөндөгү баскычтар боюнча даярдалат:

1 – микроорганизмдердин культураларын микробиологиялык лабораторияларда алуу;

2 – ачыткычтарды кичине көлөмдөгү эгүүчү аппараттарда өстүрүү;

3 – ачыткычтарды чон көлөмдөгү эгүүчү аппараттарда өстүрүү;

4 –микроорганизмдердин культураларын кичине көлөмдөгү ферментатордо топтоо (буларды да чон инокулятор деп аташат);

5 – микроорганизмдердин культураларын өндүрүштүк көлөмдөгү ферментатордо топтоо (чон көлөмдөгү өндүрүштүк заводдор үчүн).

Эгилүүчү материалды өстүрүүнүн биринчи баскычы заводдогу микробиологиялык лабораторияларда жүргүзүлөт. Мындан лабораториянын алдында, биринчи алынган штаммдарды өзгөрүүсүз калтырып сактоо тапшырмасы коюлат. Жыныссыз жол менен пайда болгон микроорганизмдердин споралары, өздөрүнүн мурунку формасын жакшы сактаган, биологиялык активдүү заттардын продуценттеринин музейдик культуралары болуп эсептелишет. Бирок узакка сактоодо бирдей клеткалардан жана спорадардан түзүлгөн культураларда деле өзүн өзү башкаралбай спонтанндык мутацияга учурашы мүмкүн. Ошондуктан таза культураларды сактоонун гана

эрежесин сактабастан, алардын морфологиялык жана физиологиялык белгилеринин бирдейлигин, мезгил-мезгили менен культуралардын спораларын кайталап эгип туруу керек.

Культураларды кайрадан эгүүдө пайда болгон колонияларды, аларга жагымдуу чөйрөдө 30-40 пробиркага өстүрөт. Андан кийин ар бир 5-6 пробиркадан бирөөнү алып анын баштапкы продуцентти берүүчү продуктаны, мисалы белокту же липидди синтездей ала тургандыгын текшерет. Мындай үзгүлтүксүз тандоо продуценттин баштапкы активдүү формасын сактап калууга мүмкүндүк берет. Микроорганизмдердин бирдей штаммдарын пробиркаларга агар чөйрөсүндө, ар бир штамм үчүн оптималдуу болгон шартта белгилүү убакытка чейин өстүрүшөт.

Пробиркадагы даяр культураларды 3-4°C температурада муздаткычта сакташат. Культураларды кайрадан эгүүдө белгилүү убакыт өткөндөн кийин, алар бардык физиологиялык жана биохимиялык касиеттерин сактай тургандай аралыкты эсептеп жүргүзүү керек. Культураны кайрадан эгүүдө өтө узак убакытка созууга мүмкүн эмес, анткени микроорганизм сакталып турган убакытта өсүү процесси жүрүп, зат алмашуудан пайда болгон продуктылар топтолуп, анын касиеттерине терс таасирин тийгизет. Культураларды көп убакытка чейин вазелин майында сактоого болот. Бул үчүн медициналык вазелинди колдонуу керек. Ал курамында уулуу жана кычкылданган заттарды камтыбашы керек.

Майдын катмары кесилген агардан 1 см жогору болуш керек. Майдын өтө калын катмарынан культураларга кычкылтек жетишсиз болуп, алар өлүмгө дуушар болушу мүмкүн. Культура толук физиологиялык жетилгенден кийин, аны стерилденген майга куят.

Мындай сактоо үчүн эн жагымдуу чөйрө болуп картөшкө-мальтоздук агар саналат.

Бизге культураларды -11-14°С температурада сактоо ыкмалары белгилүү. Мындай шартта көптөгөн культуралар 10-16 айга чейин активдүүлүгүн сактай алышат.

Козу карындардын жана ачыткыч сымал микроорганизмдердин культураларын тондурулган абалда, атмосферада -165-196°С да суюк азотто сактоого болот. Культураларды 10 %-түү глицериндин суудагы эритмесинде тондуруп, андан кийин аба кирбегендей кылып оозу жабылып (паитетилип) ампулага жайгаштырат. Ампуланы суюк азоту бар контейнерде сакташат. Микробиологдордун алган жыйынтыгы боюнча, микроорганизмдерди 5 жылдан ашык убакыт сактаса да, алар өздөрүнүн бардык биохимиялык жана физиологиялык касиеттерин сакташат.

Культураларды сактоодо лиофилизацияланган абалда сактоо ыкмасы перспективдүү экендигин эске алуу керек. Микроорганизмдердин культураларын коргогуч чөйрөгө салып, андан кийин тондуруп, кайра вакуум-лиофилдик аппаратка салат. Коргогуч чөйрө катары кант-желатин чөйрөсүн колдонууга мүмкүн. Микроорганизмдердин клеткаларын стерилденген ампулага жайгаштырып, кебез тыгын менен оозун жаап тез арада -35 -78 °С температурада тондурат. Андан кийин ампуланы вакуум-кургаткыч аппаратка жайгаштырып, 25-30 саат 1,0 - 10,0 Па басымда, бөлмө температурасында кургатат. Лиофилдик кургаган культураларды тез өсүү жана керектүү продуктаны синтездөө жөндөмдүүлүгүн жоготбогон абалда 5-6 жыл сактоого мүмкүн. Бул ыкма бир канча эффективдүү болуп саналат. Штаммдарды стерилденген топурактарда көп убакытка чейин сактоого мүмкүн. Бул үчүн

топуракты стерилдеп, ага продуценттин культурасын салат. Культура пайда боло баштаганда топуракты жууп, Петри чөйчөгүнө эгип, андан агары бар пробиркага бөлүп өстүрөт.

Штаммдарды көбүнчө дан өсүмдүктөрүндө сакташат, мисалы буудайда. Бул үчүн тазаланган буудайды аз өлчөмдөгү сууда кайнатып (суу толук синип кеткиче, 1 кг буудайды 800 мл сууда кайнатат), 30 мүнөт бууландырып, андан кийин таза столго жаят да, муздаган буудайды 250 мл көлөмдөгү стерилденген флакондорго 15-16 граммдан салып, 0,1 МП басымда 40 мүнөт стерилдейт. Стерилденген буудайга 2 мл коюу даярдалган конидиянын суспензиясын же 2 мл эки күндүк, аралаштыруучу аппараттын үстүндө, колбада өскөн продуценттин биомассасын кошот. Продуценттин культурасын мезгилдүү аралаштыруу менен 25-35 °С да вакуумда өстүрөт. Өскөн культураны 25 °С да 60-70 саат убакытта буудайдын нымдуулугу 7-8 %-ти түзгөндөй абалда вакуумда кургатат. Заводдогу микробиологиялык лабораторияда сакталган микроорганизмдердин таза культуралары керектөө зарылчылыгына жараша өндүрүшкө берилет. Бул үчүн микроорганизмдердин штаммдарын пробиркадан азык чөйрөсү бар колбага көчүрүп эгет. Өндүрүштө даярдалган азык чөйрөнүн курамы культура өсүп турган чөйрөнүн курамына дал келиши керек. Колбаны аралаштыруучу аппаратка жайгаштырып, андагы микроорганизмдердин өсүүсү, өөрчүшү үчүн оптималдык шарттарын контролдойт.

Андан кийин интенсивдүү өсүп баштаган таза культураны азык чөйрөсү бар кичине көлөмдөгү эгүүчү аппаратка берет (эгүүчү материалды өстүрүүнүн экинчи баскычы).

Эгүүчү материалдын үчүнчү баскычы эгүүчү аппараттарда жүргүзүлөт, ал эми төртүнчү баскычы ферментатордо жүргүзүлөт.

Эгерде ишкана өтө чон өндүрүштүк өндүрүмдүүлүккө жетишсе, анда эгүүчү материалдын бешинчи баскычы киргизилет б.а. төртүнчү баскычтагы ферментаторго караганда 4-5 эсе чон көлөмдөгү ферментатор керектелет.

Лабораториялык жумушту аткаруунун ирээттүүлүгү

1. Эгүүчү материалдардын баскычтарын даярдоону үйрөнүү.

2. Заводдогу микробиологиялык лабораториядагы эгүүчү материалдарды даярдоо шарттарынын бардык баскычтарына байкоо жүргүзүү.

3. Эгүүчү материалдарды даярдоонун технологиялык режимдери жана өстүрүү шарттары жөнүндөгү алынган маалыматтарды тетрадга түшүрүү.

Текшерүү үчүн суроолор:

1. Эгүүчү материалдарды даярдоонун канча баскычы бар?
2. Эгүүчү материалдарды даярдоонун ар бир баскычын мүнөздөгүлө?
3. Азык чөйрөлөрүн даярдоонун негизги параметрлерин жазгыла?

Лабораториялык жумуш № 6

Тема: Микроорганизмдер-белоктун продуценттери

Сабактын максаты: Белоктордун негизги продуценттеринин өзгөчөлүктөрүн үйрөнүү.

Керектелүүчү материалдар жана каражаттар:

Candida utilis, Candida arborea, Candida tropicalis, Candida guillier mondii, Candida sottii ачыткыларынын түрлөрүнүн ар түрдүү

штаммдары, лигнин жана целлюлоза кармаган субстраттар, ышкындын сабагынан жана жалбырагынан бөлүнүп алынган ачыткычтар *Trichosporon cutaneum* жана *Tr. Pullulans.*

Иштин теоретикалык негизделиши

Белоктордун продуценттери гидролиздик субстраттарда жакшы өсүшөт. Заводдордогу практикалык лабораториялык изилдөөлөрдө ачыткычтардын ар түрдүү штаммдарынын түрлөрү *Candida utilis, Candida arborea, Candida tropicalis, Candida guilliermondii, Candida sottii ж.б.* гидролиздик субстраттарда өстүрүү менен азык болуучу белоктордун продуценттери катарында кенири колдонуу мүмкүнчүлүгүнө ээ болду.

Candida тукумундагы ачыткыч сымал козу карындардын эн сапаттуу белгилеринин бири болуп, алардын пентоздук кошулмаларды жакшы айландыруусу саналат. Ошондуктан 1935-жылы Плевако тарабынан жалан пентоза кармаган өсүмдүк сырьелорунун гидролизатында *Candida utilis (Monilia murmanica)* ачыткыч сымал козу карынын өстүрүү ачыткычтык-гидролиздик өндүрүштөрдүн башаты болуп эсептелет.

Андан кийин ачыткычтар, гидролиздик жана спирттегенден кийинки бардада көбөйүшү, көбөйүү ылдамдыгы, биомассанын чыгышы жана алардын өсүшү үчүн зыянын тийгизүүчү кошумча заттарга туруктуулугу боюнча айырмаланган. Биомассанын чыгышы (% менен, чыккан заттардын суммасы боюнча) ар түрдүү ачыткычтарды өстүрүүдө 16 % тен 58 % ке чейин болот.

Белоктордун продуценттерин гидролизденбеген полисахариддик сырьелордо өстүрүү. Белоктордун продуценттери целлюлозаны жана гемицеллюлозаны энергиянын жана азык чөйрөсүнүн булагы катары колдонууда целлюлолитикалык жана гемицеллюлаздык

ферменттердин комплекстерин кармоосу зарыл. Белоктордун продуценттеринин ичинен целлюлоза кармаган сырьедо өсүүчү бактериялардын да, козу карындардын да өкүлдөрү, айрыкча *Cellulomonas, Alcaligenes* тукумундагы бактериялар кирет.

Мисалы, *Cellulomonas cartaluticum* бактериясы кагаз өндүрүшүндөгү агын сууларда целлюлозаны ажыратууда көп салмактагы биомассаны топтойт. Мындан гидролизденбеген целлюлозада же целлюлозада биомассанын чыгышы, курамында кантты кармаган эритмелерге караганда, жумшак шартта жегич менен иштетилгенден кийин жогору болот. Ачыткычтардын арасында гидролизденбеген полисахариддерди ажыратуучу ачыткычтардын түрлөрү азыраак кездешет, мисалы мындай ачыткычтарга ышкындын жалбырагы менен сабагынан бөлүнүп алынган *Trichosporon cutaneum* жана *Tr. pullulans* ачыткычтары кирет.

Белоктук заттардын чыгышын жогорулатуу жана сапатын арттыруу үчүн бир канча микроорганизмдердин культураларын чогуу биргеликте өстүрүү сунушталат. Мындай культуралардын аралашмасына мисал болуп *Cellulomonas жана Alcaligenes faecalis* культураларын симбиотикалык өстүрүү саналат.

Лабораториялык жумушту аткаруунун ирээттүүлүгү

1. Ар түрдүү субстраттарда өскөн белоктордун негизги продуценттери менен таанышуу.

2. Белоктордун негизги продуценттерин өстүрүү үчүн даярдалган азык чөйрөлөрүнүн негизги химиялык курамын үйрөнүү.

3. Белоктун продуценттерин өстүрүүдө технологиялык режимдер, өсүү жана өөрчүү шарттары жөнүндөгү алынган маалыматтарды тетрадга түшүрүү.

Текшерүү үчүн суроолор:

1. Белоктун кайсы продуценттерин гидролиздик субстраттарда өстүрүшөт?
2. Белоктун кайсы продуценттерин гидролизденбеген полисахариддик субстраттарда өстүрүшөт?
3. Белоктун кайсы продуценттерин сүттүн сары суусунда өстүрүшөт?

Лабораториялык жумуш № 7

Тема: Углеводороддук азык чөйрөдө өскөн белоктун негизги продуценттери.

Сабактын максаты: Углеводороддук азык чөйрөдө өскөн белоктун негизги продуценттерин үйрөнүү.

Керектелүүчү материалдар жана каражаттар:

Cryptococcaceae уруусуна кирген аспорогендик ачыткычтар, *Candida* тукумуна кирген ачыткычтар, өндүрүштүк өкүлдөрүнүн түрлөрү *C. tropicalis, C. guilliermondii, C. lypolytica, C. robusta, C. Pelliculosa, C. scottii, C. rugosa.*

Иштин теоретикалык негизделиши

Углеводороддорду керектөөгө жөндөмдүү болгон ачыткычтар нефти өндүрүүчү жайлардагы топурактардын курамында, бензин сактоочу колонкалардын жанындагы топурактарда гана кенири таркалбастан, айдоо аянттарындагы топурактарда, агын сууларда,

көлмөлөрдө ж.б. углеводород керектөөчү ачыткычтар нефти менен булганган топурактардагы ачыткычтардан аз эмес санда кездешет.

Бирок, белгилей кетчү нерсе углеводороддорду көбүрөөк санда керектөөчү штаммдар нефти менен булганган топурактардан, суулардан ж.б. субстраттардан бөлүнүп алынган. Углеводороддорду көбүрөөк санда ажыратууга айрыкча *Candida* тукумундагы *ачыткычтар, Cryptococcaceae* уруусундагы аспорогендик ачыткычтар жөндөмдүү. Алардын ичинен өндүрүштүк өкүлдөрүнүн түрлөрүнөн көбүрөөк *C. tropicalis, C. guilliermondii, C. lypolytica, C. robusta, C. Pelliculosa, C. scottii, C. rugosa* колдонулат.

Лабораториялык жумушту аткаруунун ирээттүүлүгү:

1. Ар түрдүү субстраттарда өскөн белоктун продуценттери менен таанышуу.

2. Белоктун продуценттерин өстүрүү үчүн даярдалган азык чөйрөлөрүнүн химиялык курамын үйрөнүү.

3. Белоктун продуценттерин өстүрүүдө технологиялык режимдер, өсүү жана өөрчүү шарттары жөнүндөгү алынган маалыматтарды тетрадга түшүрүү.

Текшерүү үчүн суроолор:

1. Белоктун кайсы продуценттерин суюк углеводороддук чөйрөдө өстүрүшөт?
2. Белоктун кайсы продуценттерин газ түрүндөгү углеводороддук чөйрөдө өстүрүшөт?
3. Белоктун кайсы продуценттерин этил жана метил спирттеринен даярдалган азык чөйрөдө өстүрүшөт?

Лабораториялык жумуш № 8

Тема: Липиддердин жана май кислотасынын-продуценттери

Сабактын максаты: Липиддердин жана май кислотасынын негизги продуценттеринин өзгөчөлүктөрүн үйрөнүү.

Керектелүүчү материалдар жана каражаттар:

Cryptococcus terricolus ачыткычтары, жуулган (промыленные) ачыткычтар *C.guilliermondii*, ажыроочу алкандар, углеводдук субстраттар (меласса, чым көндүн жана жыгачтын гидролизаты), ошондой эле ачыткычтардын түрлөрү *Lipomyces lipoferus жана Rhodotorula gracilis.*

Иштин теоретикалык негизделиши

Бул микроорганизмдерди өндүрүштө колдонуу үчүн, алардын көп сандагы липиддерди топтоо жөндөмдүүлүгү негизги мааниге ээ. Мындай жөндөмдүүлүккө кээ бир микроорганизмдер ээ, биринчи кезекте - *ачыткычтар*. Көпчүлүк ачыткычтарда липиддердин пайда болуу процесси бири-биринен так айырмаланган эки баскычтан турат:

- биринчиси культураны азот менен көп санда байыткан учурда белоктун тез арада пайда болушу жана липиддердин жай топтолушу менен коштолот (негизинен глицерофосфаттар жана нейтралдык майлар);

- экинчиси – ачыткычтардын өсүүсүн токтотуу жана липиддердин көп санда топтолушу (негизинен нейтралдык майлар).

Кадимки липид пайда кылуучулар болуп *Cryptococcus terricolus* ачыткычы саналат. Алар ар кандай шартта көп сандагы липиддерди синтездөөгө жөндөмдүү (кургак салмакта 60 % ке чейин).

Башка липид пайда кылуучу ачыткычтардан алкандарда ажыратуучу, өндүрүштүк кызыкчылыкка *C.guilliermondii* ачыткычтары ээ.

Алар негизинен фосфолипиддерди синтездешет. Ошондой эле ачыткычтардын *Lipomyces lipoferus* жана *Rhodotorula gracilis* деген түрлөрү көп сандагы липиддерди топтоп, углеводдук субстраттарда активдүү өсүшөт (мисалы, мелассада, чым көндүн жана жыгачтардын гидролизатында). Ачыткычтардын бул түрлөрүндө липогенез, өстүрүү шартынан кескин түрдө көз каранды. Бул продуценттер белгилүү сандагы (70 % ке чейин) триацилглицериддерди синтездешет.

Ал эми микроскопиялык козу карындар азырынча липиддердин продуценттери катарында өтө кенири таркала элек, бирок козу карындар синтездеген майлар курамы боюнча өсүмдүк майларына окшош болот. *Aspergillus terreus* синтездеген майдын чыгышы углеводдук чөйрөдө абсолюттук кургак салмакта эсептегенде (АКС) 51 % ке жетет. Козу карындардын липиддик курамы көбүнчө нейтралдык майлардан жана фосфолипиддерден турат. Бактериялар синтездеген липиддер, өздөрүнүн курамы боюнча негизинен татаал липиддерден түзүлгөн, ал эми нейтралдык майлар биомассанын азыраак бөлүгүн ээлейт. Ошондуктан бактериялар (10-20 чейин көмүртектин атомун кармаган) ар түрдүү май кислоталарын синтездешет, алар өндүрүштүк спецификалык май кислоталарын алуу үчүн маанилүү. Ал эми балырлар болсо липид пайда кылуучу продуцент катары өтө перспективдүү, анткени алар органикалык көмүртектин булагына муктаж болбойт. Балырлардын химиялык курамы да (белоктун жана майлардын катышы боюнча) чөйрөдө азоттун кармалышынан көз каранды. Азоттун жетишсиздиги –

продуценттин өсүү ылдамдыгын начарлатып, клеткада уулуу заттардын топтолушуна жана өндүрүштө колдонулушун чектөөгө алып келет.

Демек, липиддердин биосинтезинде негизги ролду ачыткычтардын ар түрдүү штаммдары аткарышат. Алар ошол эле азык болуучу белокторду алууда колдонулуучу сырьенун булагын колдонушат, мында көмүртектик азык чөйрөсүнүн баалуулугунан биомассанын чыгышы жана синтезделген липиддин курамы, саны көз каранды. Липиддердин биосинтезин ишке ашырууда азык чөйрөсүндө оной ажыроочу азоттун булактары колдонулат.

Лабораториялык жумушту аткаруунун ирээттүүлүгү

1. Липиддердин жана май кислотасынын негизги продуценттери менен таанышуу.

2. Липиддердин жана май кислотасынын продуценттерин өстүргөн азык чөйрөсүнүн негизги химиялык курамын үйрөнүү.

3. Липиддердин жана май кислотасынын продуценттерин өстүрүүдөгү технологиялык режимдерин, өсүү жана өөрчүү шарттары жөнүндө алынган маалыматты тетрадга түшүрүү.

Текшерүү үчүн суроолор:

1. Липиддердин жана май кислотасынын продуценттерин кандай чөйрөдө өстүрүшөт?

2. Липиддердин жана май кислотасынын продуценттери болуп кайсы ачыткычтар саналышат?

3. Кайсы бактериялар липиддердин жана май кислотасынын продуценттери болуп саналышат?

Кайсы микроскопиялык козу карындар жана балырлар липиддердин жана май кислотасынын продуценттери болуп саналышат?

Лабораториялык жумуш № 9

Тема: Сүт, лимон жана пропион кислоталарын алуу

Сабактын максаты: Сүт, лимон жана пропион кислоталарын микробиологиялык ыкмалар менен алуунун өзгөчөлүктөрүн үйрөнүү.

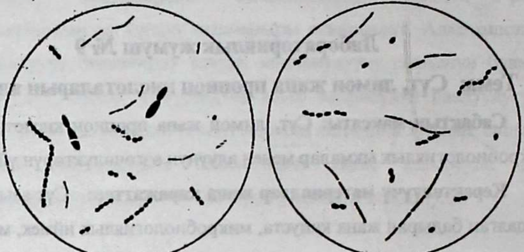
Керектелүүчү материалдар жана каражаттар: Сүт азыктары, туздалган бадыран жана капуста, микробиологиялык иймек, метилен көк, пинцет, микроскоп, пробиркалар, спиртте күйүүчү шам, Никифорованын аралашмасы, стерилденген сүтү бар пробиркалар, сүт кычкыл бактерияларынын таза культуралары, бүктөлгөн чыпка кагазы, күкүрт кислотасынын 10%-түү эритмеси, калий перманганатынын 2%-түү эритмеси, күмүш нитратынын 0,5%-түү эритмеси, чыпка кагазынын кесиндиси, концентрацияланган күкүрт кислотасы, жездин купоросунун каныккан эритмеси, тиофендин 0,2%-түү спирт эритмеси, суу банясы, ток плиткасы.

Иштин теоретикалык негизделиши

Сүт азыктарынын ачуусу аэробдук процессте сүт кычкыл бактерияларынын ферменттеринин натыйжасында сүт кислотасын ж.б. продукталарды пайда кылуу менен углеводдордун ажыроосу болуп саналат. Бактериялардын түрлөрүнө жараша, бул процесстин жүрүшү, пайда болгон акыркы продукталар ар түрдүү болушу мүмкүн. Гомоферментативдик жана гетероферментативдик сүт кычкыл ачуу процесстерин ажыратышат.

Гомоферментативдик сүт кычкыл ачуу процессинде сүт канты бир гана сүт кислотасын пайда кылат. Ал эми гетероферментативдик

ачууда сүт кислотасынан башка да продукталар пайда болот (женил учуучу кислоталар, спирттер, газдар, эфирлер).



5-сүрөт. Кефирдин микрофлорасы: *Streptococcus lactis, Lactobacillus bulgaricus, Saccharomyces kefiri;* ацидофилиндин микрофлорасы: *Lactobacillus acidophilus, Streptococcus lactis.*

Гомоферментативдик ачуунун козгогучтары болуп *Strepococcus lactis* микроорганизми саналат. Овалдык түзүлүштөгү коктордун диаметри 0,5—1,0 мкм болуп, экиден жайгашат (диплококктор) же кыска чынжыр түрүндө (стрептококктор), кээде бир клеткадан; *Strepococcus cremoris* — мында клеткалар узунураак чынжыр болуп жайгашышат; *Lactobacillus bulgaris* —кыймылсыз, грамположителдик чоң-чоң таякчалар түрүндө (узундугу 4—5 мкм), өз алдынча, кыска чынжыр клеткалар түрүндө жайгашкан, анын өөрчүү мезгилинин оптималдык температурасы 40—45°С (5-сүрөт); *Lactobacillus acidophilus* - морфологиясы боюнча болгарскийге жакын, бирок башка температуралык оптимумга ээ, өөрчүсү — 37 °С. Ацидофилинди жасоо үчүн колдонулат. Гетероферментативдик микроорганизмдердин ачуусу көбүнчө

жашылчаларды жана силосторду туздоодо кезигет. Буларга *Lactobacillus brevis, Lactobacillus brassicae Leuconostoc meseteroides* ж.б. кирет. Өндүрүштө бактериялардын таза расалары колдонулат.

Углевод кармаган субстраттарда көптөгөн сүт кычкыл бактериялар сүт кислотасын синтездешет CH_3-CHOH-COOH. Көбүнчө алар сүт азыктарында кездешишет, алардын иш аракетинин натыйжасында кефир ж.б. сүт азыктарын алууга болот. Сүт кычкыл бактериялары өсүмдүктөрдүн данында да кездешет, ошондуктан кара нандарды камырдын табийгый ачуусунан кийин алууга болот. Өндүрүштө сүт кислотасын термофилдик бактерияларга кирген *Bacterium delbrъckii* (синоними *Lactobacillus delbrъckii*) культурасын колдонуу менен алышат. Оптималдык өөрчүү температурасы 45-50 °С. Микроскоптон караганда алар узун таякча түрүндө көрүнөт.

Сүт кислотасы химиялык (пластмассаны, боекторду, сыяларды, лактарды алууда), фармацевтикалык жана тамак аш өндүрүштөрүндө кенири колдонулат. Сүт кычкыл бактериясынын ферменттик системасы глюкозаны сүт кислотасына айландырат жана ал төмөндөгү тендемеде чагылдырылат:

$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow CH_3\text{-}CHOH\text{-}COOH + 75\ кДж.$$

Биринчи гликолиз, андан кийин жүзүм кант кислотасы лактатдегидрогеназа ферментинин таасиринде калыбына келет (6-сүрөт).

Сүт кислотасы өндүрүштө анаэробдук шартта терен ферментация процессинде алынат. Негизги сырье катары меласса, сахароза жана крахмалдын гидролизаты колдонулат. Чөйрөдө канттын концентрациясы 5-20 %, температурасы 48-50°С, рН 6,3-6,5 түзөт.

Ферментация убагында чөйрөнүн рН кальцийдин карбонатынын жардамында кармалат, аны бир күндө 3-4 жолу кошот.

Сүт кычкыл ачуу процессинде биологиялык активдүү заттар он таасирин тийгизишет. Ушул максатта чөйрөгө угуттун өсүндүсүнүн сыгылган үлгүсүн кошот. Ферментациянын жүрүү узактыгы 7-11 күн.

Ферментация бүткөндөн кийин чөйрөдө 0,5-0,1 % кант жана 11—14% кальцийдин лактаты калат. Кальцийдин карбонатынын калдыгын жана коллоиддик бөлүкчөлөрдү чыпкалоо менен же 80-90 °С да тундуруу менен бөлүп алат. Фильтратты концентрациясы 27-30 % чейин буулапдырып, андан кийин 25-30 °С чейин муздатып, 36-48 саат кристаллизатордо кармайт. Лактаттын кристаллдарын центрифугалоо менен бөлүп алат (анын чыгышы 50-55 % түзөт). Акыркы убактарда лактатты кристалдаштырууиун үзгүлтүксүз ыкмалары иштелип чыгууда.

6-сүрөт. Сүт кислотасынын пайда болуу схемасы

Сүт кислотасын лактаттан күкүрт кислотасынын жардамында алышат. Реакция төмөндөгү теңдемеге ылайык 60-70 °С да жүрөт:

$$Ca(C_3H_5O_3)_2 + H_2SO_4 \rightarrow CaSO_4 + 2C_3H_6O_3$$

Сүт кислотасынан темирдин иондорун бөлүп алуу үчүн 65°С да сары кан тузу менен иштетет (бул учурда берлин лазуру чөкмөгө түшөт). Оор металлдарды натрийдин сульфаты менен чөктүрөт.

Боечу заттарды адсорбциялоо үчүн активдешкен көмүр колдонулат. Андан кийин массаны 50% же 80% чейин концентирлөө үчүн 800-920 кПа да вакуум-аппаратта жүргүзүлөт. Сүт кислотасын дагы бир жолу активдешкен көмүр менен иштетип, чыпкалап, идиштерге салат.

Иштин жүрүшү

Сүт кычкыл ачуу процессин жүргүзүүчү бактериялар менен таанышуу үчүн даяр сүт кычкыл азыктарын (простокваша, ацидофилин, айран) жана туздалган бадыран менен капустанын туздуу эритмелерин колдонууга болот.

Көрсөтүлгөн продукталарды ийиектин жардамында предметтик айнекчеге тамызып, жука мазок жасайт. Мазокту фиксирлеп, ошол эле убакта Никифорованын аралашмасы менен суусуздандырат (10 мүнөт). 3—5 мүнөт аралыгында метилен көк менен боеп, андан кийин суу менен жууп, кургатып, МИ-90 объектисиндеги микроскоптон көрөт.

Сүт кислотасынын пайда болгондугуна ынандыруу үчүн сапаттык реакция жасайт. Сүт кычкыл продукталарынын бирөөсүн чыпкалайт да, пробиркага фильтраттан 2 мл куюп, ага 5 мл концентрацияланган күкүрт кислотасынан жана 10 тамчы жездин купоросунан кошот. Суу банясында 100°С температурада аралаштыруу менен 5 мүнөт ысытат. Муздагандан кийин 3-5 тамчы 0,2 %-түү тиофендин спирттеги эритмесин кошот. Эгерде сүт кислотасы бар болсо кочкул-кызыл түс пайда болот.

Пропион кислотасы

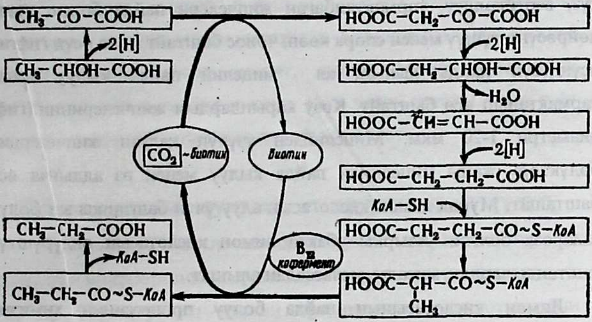
Пропион кислотасын CH_3-CH_2-COOH пропион кычкыл бактериялары өндүрөт. Өндүрүштө быштактарга атайын даам берүү үчүн колдонулат.

Пропион кислотасы жыпар жыттуу заттарды өндүрүүдө эриткич катары колдонулат.

Химиялык-фармацевтикалык өндүрүштөрдө ал сырье катары колдонулат. Пропион кислотасын өдүрүш үчүн алууда бактериялардын ар түрдүү культуралары колдонулат, мисалы *Propionibacterium freudenreichii, P. shermanii. P. rubrum* ж.б.

Булар спора пайда кылбоочу, грамположителдик, факультативдик, анаэробдук бактериялар. Бул группадагы бактериялар B_{12} витамининин активдүү продуценттери болуп саналышат.

Пропион кислотасын анаэробдук шартта суюк азык чөйрөсүндө өстүрүү менен алышат (7-сүрөт). Чөйрө катары 2% глюкоза, органикалык азоттун булагы болгон мисалы, ачыткыч экстракты, ошондой эле сүт кислотасынын туздары колдонулат. Процесс нейтралдык чөйрөдө (рН 6,8-7,2), 30°С температурада, 7-12 күнгө созулат. Ачуу процессинде пропион, уксус кислоталары (5:1) топтолуп, көмүр кычкыл газы бөлүнүп чыгат (75% ке жакыны кант кислотасын пайда кылууга, а 20% ти- көмүр кычкыл газынын пайда болушуна сарпталат).



7-сүрөт. Пропион кислотасынын пайда болуу схемасы

Лимон кислотасы

Лимон кислотасы $CH_2COOH\text{-}COHCOOH\text{-}CH_2COOH$ жемиштерде - карагатта, моюлда, лимондо ж.б. кенири таралган.

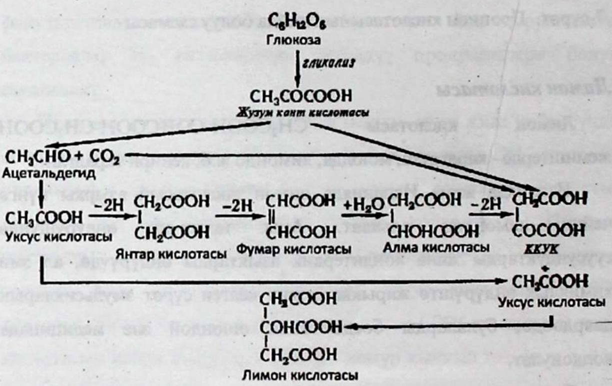
Италияда жана Испанияда лимон кислотасын азыркы күнгө чейин лимондон алышат. Аны тамак-аш өндүрүшүндө суусундуктарды жана кондитердик азыктарды өндүрүүдө, ал эми химиялык өндүрүштө жарыкка сезгич келген сүрөт эмульсияларын даярдоодо, булаларды боедо жана ошондой эле медицинада колдонулат.

Лимон кислотасын микробиологиялык ыкма менен негизинен тыгыз азык чөйрөсүндө өстүрүлгөн микроскопиялык *Aspergillus* niger бубак козу карынын колдонуу менен алышат.

Aspergillus niger вегетативдик жол менен жана споралары аркылуу көбөйөт. *Aspergillus* козу карынынын конидиеносунан ыйлаакчанын учунда болуучу мицелийдин вегетативдик клеткасынан

түз, вертикалдуу, тармактанбаган жипчелери пайда болот. Азык чөйрөсүнө түшүү менен спора көөп, чоное баштайт жана өсүп гифгин өсүндүсүн пайда кылып, ал мицелий пайда кылуу менен тармактанып өсө баштайт. Козу карындардын жипчелеринин (гиф) диаметри 1-20 мкм. Мицелийден үзүлүп калган жипчелердин бөлүктөрү жаны мицелийди пайда кылуу менен өз алдынча өсө баштащат. Мурда лимон кислотасын алуу үчүн баштапкы заг болуп сахароза болгон. Азыркы убакта лимон кислотасын өндүрүштүк таштандылардан, мисалы, мелассадан алышат.

Лимон кислотасынын пайда болуу процессинин химизми Кребстин чынжырындагы реакциялар менен байланышта (8-сүрөт).



8-сүрөт. Лимон кислотасынын пайда болуу схемасы

Схемадан көрүнүп тургандай лимон кислотасы уксус жана козу кулак кислоталарынан пайда болот.

Эксперименталдык түрдө керектелген канттан 98% лимон кислотасы алынат, бирок практика жүзүндө продуктанын чыгышы

азыраак, анткени мындай болушунун себеби башка кошумча процесстердин жүрүшү менен шартталат. Культуралдык суюктуктан Кребстин чынжырындагы аконит, янтар, фумар жана алма кислоталарды гана эмес, бирок кээде 0,5% чейин глюкон, кант, козу кулак жана малон кислоталарын да табууга болот.

Лабораториялык жумушту аткаруунун ирээттүүлүгү

1. Органикалык кислоталардын жана аларды өндүрүүдө колдонулган микроорганизмдердин мүнөздөрү менен таанышуу.

2. Ар бир каралып жаткан органикалык кислоталардын биосинтезинин өзгөчөлүктөрүн үйрөнүү.

3. Лекциялык жана лабораториялык материалдардын негизинде сүт, лимон, уксус жана пропион кислоталарын алууда жүрүүчү химиялык процесстердин өзгөчөлүктөрүнө салыштырмалуу анализ жүргүзүү. Алынган маалыматты таблицага түшүргүлө.

Текшерүү үчүн суроолор:

1. Сүт, лимон, уксус жана пропион кислоталарын алууда кайсы микроорганизмдер колдонулат?

2. Өндүрүштө органикалык кислоталарды микробдук синтез жолу менен алууда кандай продукталар колдонулат?

3. Сүт, лимон, уксус жана пропион кислоталарын алууда кайсы негизги химиялык процесстер колдонулат?

Лабораториялык жумуш № 10

Тема: Ферменттик препараттарды өндүрүүнүн технологиясы

Сабактын максаты: микробдук ферменттерди алуунун технологиялык этаптарын үйрөнүү

Керектелүүчү материалдар жана каражаттар: субстраттар (буудай саманы, угут өсүндүсү, жыгач таарындысы ж.б.), стерилизатор, кювета, микроскопиялык козу карындар, козу карындын культурасы, вакуумда-бууландыруучу аппарат, центрифуга, сублимациялык кургаткыч, органикалык эриткичтер.

Иштин теоретикалык негизделиши

Ферменттик препараттарды өндүрүү эки ыкмада - беттик (катуу фазада) жана терен (суюк фазада) ферментацияда жүргүзүлөт. Катуу фазада өстүрүү негизинен микроскопиялык козу карындарды өстүрүүгө негизделген. Анын негизинде борпон, катуу азык чөйрөлөрүндө микроорганизмдерди өстүрүү жатат. Ал эми терен ферментация шартында өстүрүү ыкмасында микроорганизмдерди суюк азык чөйрөсүндө өстүрүлөт. Бул ыкмалар менен аэробдук жана анаэробдук микроорганизмдерди өстүрүүгө болот.

Катуу азык чөйрөсүндө микроорганизмдерди өстүрүү

Катуу азык чөйрөлөрүн даярдоодо субстратты (буудай саманы, угут өсүндүлөрү, жыгач таарындысы ж.б.) стерилизатордо аралаштырып, алынган аралашманы стерилдөөдөн мурда 20-40 % - түү нымдуулукта суу кошот. Стерилдеп, муздагандан кийин эгилүүчү материалды кошуп, стерилденген суудан 58-60% нымдуулукту сактагандай абалда кошот. Чөйрөнү кюветага 2-3 см калындыкта жайгаштырып, 28-32^{0}С температурада 22-40 саат кармайт.

Микроорганизмдердин ар түрдүү түрлөрүн ар бирине мүнөздүү болгон температуралык режимде, нымдуулукта, аэрациялоо менен өстүрүлөт.

Өсүү процессинде микроскопиялык козу карындар азык чөйрөнүн кургак заттарынын 25-35 % сарптайт жана айлана чөйрөгө көптөгөн санда жылуулукту, көмүр кычкыл газын бөлүп чыгарат. Бул процесстердин баары кайрадан өсүмдүктөр менен анын тескерисинче калыбына келип турат.

Козу карындар иштеп чыгарган продукт 35-58 % нымдуулуктагы брикетти чагылдырат, мында азык чөйрөнүн бөлүкчөлөрү менен мицелий биригет. Бул туруксуз продукт, анткени мында ферменттер 3 сааттын ичинде толук инактивация болушу мүмкүн.

Культураларды активдүү абалда сактоо үчүн көп убакытка чейин 10-13 % нымдуулукта кургатат. Кургатуунун негизги шарты болуп козу карындын культурасын кургатуучу шкафта 5-8 мүнөткө чейин 40-42°С чейинки температурада кармоону максималдык кыскартуу саналат.

Терең ферментация ыкмасында өстүрүү

Терен ферментация шартында өстүрүүдө азык чөйрөсүнүн курамын микроорганизм-продуценттердин физиологиялык-биохимиялык жана өндүрүштүк шартта алына турган ферменттин же ферменттик комплекстин өзгөчөлүктөрүнө карап тандап алат. Микроорганизмдерди ферментердо өстүрүп бүткөндөн кийин таза түрүндөгү ферменттик препараттарды алуу үчүн культуралдык суюктуктан биомассаны бөлүп алуу жана культурадан ферменттерди экстракциялоо ыкмаларын, культуралдык суюктукту концентирлөө, ферменттик препараттарды стандарттоо, аларды кургатуу процесстерин жүргүзүшөт.

Кристалл түрүндөгү ферменттерди алуунун технологиялык схемасын, *Asp.oryzae* культурасынан бөлүнүп алынган α-амилазанын мисалында көрүүгө болот. 5- сүрөттө ферменттерди тазалоо жана кристаллдаштыруу схемасы көрсөтүлгөн.

Тазаланган ферменттик препараттар ферменттердин суулуу эритмелеринен алынат. Балластык заттардан тазалоо үчүн ар түрдүү ыкмалар: диализ, органикалык эриткичтер жана нейтралдык туздар менен чөктүрүү, алардын татаал комплекстеринен иммобилизациялоо менен ферменттерди бөлүп алуу колдонулат.

Техникалык формадагы ферменттерди алуу үчүн продуценттин культурасын эрибөөчү балластык заттардан - катуу азык чөйрөсүнүн калдыктарынан жана мицелийден тазалайт. Ферменттер сууда эрүүчү белокторго киргендиктен, алар үчүн эн жакшы экстрагент болуп суу саналат. Эндоферменттерди бөлүп алуу үчүн микроорганизмдердин клеткалык кабыгын механикалык бузуу керек. Ферменттердин термостабилдүүлүгү экстракция процессин 27-30°С да жүргүзүүнү талап кылат,

Экстрактка өткөн эриген заттардын 50 % азоттук кошулмалардан турат, алардын ичинен 0,5% гана ферменттерди түзөт.

Алынган диффузиялык эритмени вакуумда-кургаткыч аппаратка жөнөтөт, мында кургаган заттардын концентрациясы 50 % ке чейин жогорулайт жана бул учурда температура 30-32° С дан ашпоо керек.

Сироп түрүндөгү алынган препараттагы кургак заттардын кармалышы 50% чейин боло тургандай кылып аш тузу менен стандарттайт. Мына ушундай жол менен андан ары үйлөөчү кургаткычта кургатууга мүмкүн болгон техникалык ферменттик препараттар алынат.

Техникалык препараттан таза түрүндөгү ферменттик препараттарды алуу үчүн ферменттерди суулуу экстрактарынан аммонийдин сульфатынын каныккан эритмеси менен алдын ала туздагандан кийин, органикалык эриткичтер (риванол, ацетон, этанол ж.б.) менен кайрадан чөктүрүүдөн алынган препарат белгилүү деңгээлде тазаланганга чейин бир канча жолу жүргүзөт (4 жолуга чейин). Суулуу эритмелерден ферменттерди органикалык эриткичтер менен бөлүп алуу туздоого караганда бир кыйла эффективдүү болуп саналат, анткени ал жөнөкөйүрөөк жана эриткичтерди кайра айдоо (перегонка) менен оной бөлүп алууга болот. Эриткичтер менен ферменттин эритмесин аралаштырууда ферменттердин азыраак чыгымга учурашы үчүн, төмөнкү температурада чөктүрүшөт. Мисалы, этанолду -5-8°С чейин, ал эми ферменттердин суулуу эритмесин 5-6°С чейин муздатат.

Этанолду ферменттик эритме менен аралаштыргандан кийин ферменттин чөкмөсүн центрифуга аркылуу бөлүп алып, андан кийин сублимациялык кургатууга жөнөтөт. Ферменттерди бөлүп алууда алардын ар бири үчүн температуралык режим, экстрактын көлөмү жана башка көрсөткүчтөрдө өзүнүн өзгөчөлүгү болот.

Органикалык эриткичтердин жардамында препаратты бөлүп алууда пайда болгон ферменттердин комплексин фракциялоо сунушталат. Мындай жогорку денгээлдеги тазаланган препараттардан кристаллдык таза ферменттерди алууга болот.

Лабораториялык жумушту аткаруунун ирээттүүлүгү

1. Ферменттик препараттарды алууда культураларды өстүрүүнүн ыкмаларын үйрөнүү.

2. Лабораториялык шартта ферменттердин продуценттеринин тыгыз азык чөйрөсүндө өсүү жана өөрчүү баскычтарына байкоо жүргүзүү.

3. Беттик жана терен ферментация ыкмаларынын жетишкен жана жетишпеген жактарын аныктап, алынган натыйжаларды тетрадга түшүргүлө.

Текшерүү үчүн суроолор:

1. Ферменттерди микробиологиялык синтездөөнүн жакшы жактары эмнеде экендигин түшүндүргүлө?
2. Ферменттер кайсы жерлерде колдонулат?
3. Ферменттердин продуценттерин өстүрүү ыкмалары кайсылар?
4. Тыгыз ферментация ыкмасынын негизи эмне болуп саналат?
5. Иммобилизациялоодогу органикалык жана органикалык эмес алып жүрүүчүлөрдү атагыла?
6. Ферменттерди иммобилизациялоо ыкмалары кайсылар?

Лабораториялык жумуш № 11

Тема: Микробдук клеткаларда лизиндин биосинтезделиши

Сабактын максаты: микробдук клеткаларда лизиндин пайда болуу процессин үйрөнүү.

Керектелүүчү материалдар жана каражаттар: *Brevibacterium, Micrococcus, Corynebacterium* уруусундагы ауксотрофтук бактериялар, углеводдорду же уксус кислотасын, азот булактарын, треонинди, тиаминди кармаган чөйрө.

Иштин теоретикалык негизделиши

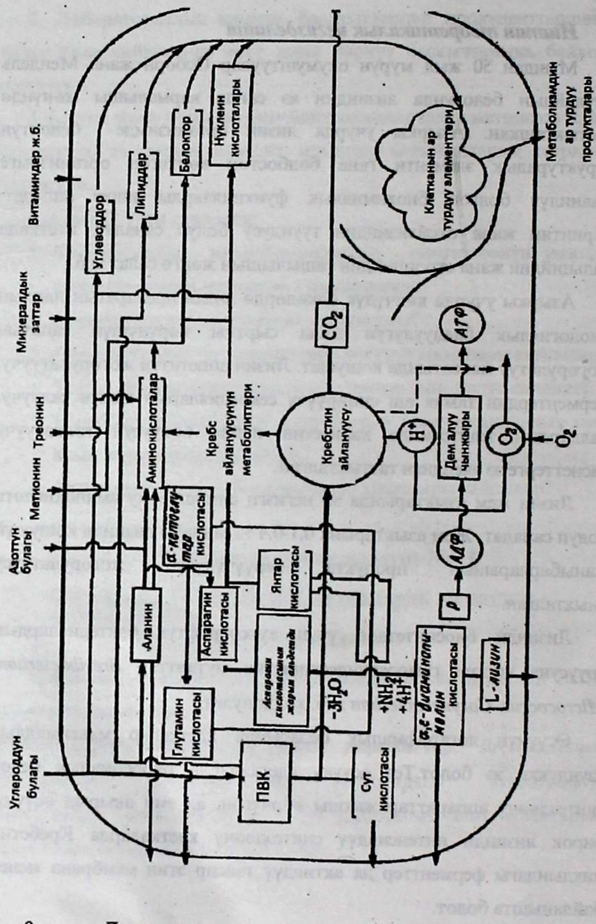
Мындан 50 жыл мурун окумуштуулар Осборн жана Мендель буудайдын белогунда лизиндин аз санда кармалышы жөнүндө тастыкташкан. Азыркы учурда лизин организимде белоктун структуралык элементи гана болбостон көптөгөн организимге маанилүү болгон биохимиялык функцияларды ишке ашырат: карнитин жана оксилизиндин туундусу болуп саналат, клеткада кальцийдин жана стронцийдин ташылышын жөнгө салат ж.б.

Азыркы учурда көпчүлүк өлкөлөрдө лизин препаратын нандын биологиялык баалуулугун жана сырткы көрүнүшүн сапатын жогорулатуу максатында кошушат. Лизин аппетитти жогорулатуучу, ферментердин тамак аш сиңирүүчү секрецияларын жөнгө салуучу, балдардын тиштеринде кариестин пайда болуусун токтотуучу касиеттерге ээ экендиги тастыкталган.

Лизин жем азыктарында эң негизги алмашбоочу аминокислота болуп саналат. Жем азыктарына 0,1-0,4 % сандагы лизинди кошуу үй жаныбарларынын продукта берүүчүлүгүн жогорулатуусу аныкталган.

Лизинди биосинтездөө үчүн ауксотрофтук бактериялардын уруусуна кирген гомосериндефициттик мутанттар *Brevibacterium, Micrococcus, Corynebacterium* ж.б. колдонулат.

Өсүүнүн логарифмалык фазасында клеткалар максималдык узундукка ээ болот.Тез өсүүчү клеткаларда рибосомалык белок синтездөөчү аппараттар жакшы өөрчүгөн, ал эми акырын өсүүчү, бирок лизинди интенсивдүү синтездөөчү клеткаларда Кребстин циклындагы ферменттер да активдүү таасир этип мембрана менен байланышта болот.



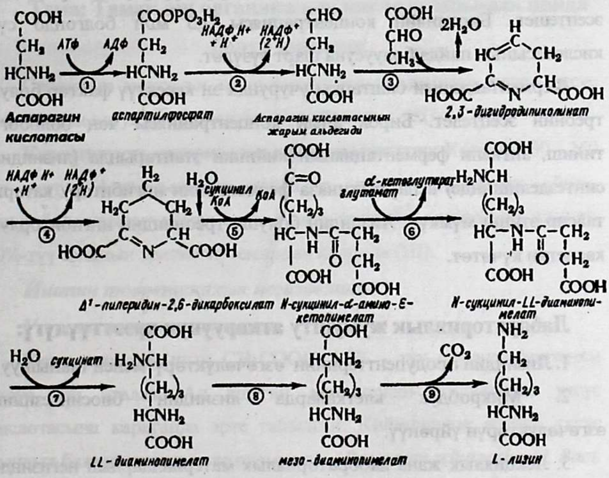
9-сүрөт. Лизиндин продуцентинин клеткасынын модели

Лизиндин продуценттери углевод же уксус кислотасын, азоттун жана кычкылтектин булактарын кармаган чөйрөдө өстүрүлөт. Бактериялардын клеткаларында лизин жүзүм, аспарагин жана янтарь кислоталарынан 9-сүрөттө көрсөтүлгөн схемада синтезделет.

Лизиндин молекулаларынын пайда болуу химизми 10-сүрөттө көрсөтүлгөн.

Лизинди алууда биринчи кезекте кошумча керексиз процесстерден арылуу керек.

Мисалы, биосинтез учурунда кычкылтектин жетишсиздигинен лизин менен кошо аланиндин же сүт кислотасынын пайда болушу мүмкүн.



10-сүрөт. Лизиндин биосинтезинин химизми

Чөйрөдө гомосериндин, метиониндин жана трециндин концентрациясынын таңкыстыгы өтө негизги фактор болуп саналат. *Brevibacterium sp.* 22 культурасынын нормалдуу өсүшү, лизиндин биосинтези үчүн бир литр азык чөйрөсүндө оптималдуу болуп трециндин концентрациясы 800 - мг, метиониндики -200 мг эсептелет. Мындан башка культуранын өөрчүшү үчүн бир литр чөйрөдө концентрациясы 200 мкг болгон тиамин керектелет. Процесстеги негизги регулятор болуп биотин саналат.

Ошол эле *Brevibacterium sp.* 22 культурасы чөйрөдө биотиндин концентрациясы 1-4 мкг/л болгондо глутамин кислотасын, ал эми концентрациясы 15-20 мкг/л болгондо лизинди пайда кылат.

Биотин клеткалык кабыкчанын өткөрүмдүүлүгүн өзгөртөт деп эсептешет. Биотиндин концентрациясы 2,5 мг/л болгондо сүт кислотасынын пайда болуусуна шарт түзүлөт.

Ферментациянын баштапкы учурунда эң керектүү фактор болуп треонин эсептелет. Бирок анын концентрациясы чоң болбоого тийиш, анткени ферментациянын кийинки этаптарында (лизиндин синтезделишинде) аспартаткиназа ферментинин ингибитору катары таасир этиши мүмкүн. Лизиндин болушу треониндин ингибиторлук касиетин күчөтөт.

Лабораториялык жумушту аткаруунун ирээттүүлүгү:

1. Лизиндин продуценттеринин өзгөчөлүктөрү менен таанышуу.

2. Микробдук клеткаларда лизиндин биосинтезинин өзгөчөлүктөрүн үйрөнүү.

3. Лекциялык жана лабораториялык материалдардын негизинде ачыткычтардын, актиномицеттердин жана кээ бир балырлардын

клеткаларында лизиндин биосинтезинин синтезделишинин өзгөчөлүктөрүн салыштыруу.

Текшерүү үчүн суроолор:

1.Лизинди биосинтездөөдө кайсы микроорганизмдер колдонулат?

2. Ачыткычтардын, актиномицеттердин жана кээ бир балырлардын клеткаларында лизиндин пайда болуу жолу эмне деп аталат?

3.Бактериалдык клеткаларда лизиндин пайда болуу жолу эмне деп аталат?

Лабораториялык жумуш № 12

Тема: Тамак аш органикалык кислоталарынын пайда болуу химизми

Сабактын максаты: микробиологиялык ыкмалар менен уксус кислотасын алуунун өзгөчөлүктөрүн үйрөнүү.

Керектелүүчү материалдар жана каражаттар: Көлөмү 100—150 мл конус формасындагы колбалар, пиво, предметтик айнек, микробиологиялык иймек, метилен көк эритмеси, микроскоп, пинцет, 10%-түү соданын эритмеси, темирдин хлориди (III).

Иштин теоретикалык негизделиши

Уксус кислотасы жана уксус

Уксус кислотасынын CH_3COOH 5-9% - түү суудагы эритмеси уксус деп аталат. Ал ачыган винолордун составынан уксус кислотасына караганда эрте табылган. Кийинчерээк өзгөчө уксус кычкыл бактериялардын жардамында *(Bacterium schutzenbachi, Bact. curvum)* спирт эритмелерин ачытуу менен уксус кислотасын ала

башташкан. Натыйжада бууландырып айдоо аппаратынын жардамында өтө ачытылган эритмеден 70 - 80 % - түү уксус кислотасынын эритмесин б.а. уксус эссенциясын алат. Суусуз же муздай уксус кислотасынын концентрациясы 99,8 %- ке барабар.

Уксус кислотасын тамак аш өндүрүштөрүндө, органикалык боекторду эритүүдө, медикаменттерди, пластмассаларды, синтетикалык жиптерди алууда жана микробиологиялык синтезде көмүрдүн булагы катары ж.б. колдонулат.

Микробиологиялык жол менен алынган уксус ачуу процессинде анча көп эмес сандагы эфирлер, мисалы этилацетаттын, ошондой эле спирттердин жана кислоталардын пайда болушунун эсебинен жагымдуу жытка жана даамга ээ.

Уксускычкыл бактериялары *Acetobacter* тукумуна таандык. Булар узундугу 0,5-8,0 мкм болгон мурутчалары бар таякча түрүндөгү спораларды пайда кылган терс граммдык бактериялар.

Уксус кислотасын пайда кылууда алкогольдегидрогеназа ферменти катализдейт. Реакциянын теңдемеси төмөндөгүдөй түзүлүшкө ээ:

$$CH_3CH_2OH + O_2 \rightarrow CH_3COOH + H_2O + 490\ кДж.$$

Бул процесс үчүн оптималдык реакциянын чөйрөсү *Bact. schutzenbachi* культурасы үчүн pH 3,0, температура 28 °С, ал эми *Bact. curvum* культурасы үчүн – 35-37 °С.

Чөйрөдө спирттин концентрациясы 7-15 %, кислотанын акыркы концентрациясы 8-14 % (орточо 10 %) түзөт. Эгерде чөйрөдө ачуу процессинде спирт түгөнүп калса, анда уксустун кычкылдануусу жүрөт:

$$CH_3COOH + 2O_2 \rightarrow 2CO_2 + 2H_2O$$

Процесстин акырында чөйрөдө 0,3-0,5 % колдонулбаган спирт калышын сөзсүз түрдө байкап туруу керек. Ачуу процесси убагында аэрация менен жакшылап камсыз кылуу керек, бул болсо теоретикалык жактан эсептегенде спирттин массасынын 46 бөлүгүнө 32 кычкылтек керектелет дегенди түшүндүрөт.

Өндүрүштө уксус кычкылдык ачууну вертикалдык генераторлордо үзгүлтүксүз ыкма боюнча жүргүзүшөт. Генераторлорду атайын бөлүкчөлөр же башка толтургучтар, мисалы отун көмүрү, көмүр ж.б. менен үстүнкү бетин толтурат.

Спирттин эритмеси генератордун үстүнөн, ал эми аба ага каршы агым менен жиберилет. Генератордун үстүнкү бетинде жайгашкан бөлүкчөлөрдүн бетинде бактериялар спиртти уксус кислотасына чейин кычкылдандырат.

Көбүнчө генератордун диаметри 1-3 м, бийиктиги 2,5-6 метрге чейин жетет. Генераторлор ичи керамикалык плитка салынган жыгачтан, керамикадан же дат баспоочу болоттон, айнектен, темир бетондон жасалат.

Генераторду иштетээрден мурда уксус менен кычкылдандырган бөлүкчөлөр менен толтурат, бул учурда генератордон чыккан уксус мурдагы эритменин концентрациясына барабар болушу керек. Генераторду кое берээрден мурда анын ичин бөлүкчөлөр менен толтуруп, генератордон бөлүнүп чыккан уксус баштапкы уксустун концентрациясына жеткенге чейин уксус менен кычкылдандырат. Бул болжол менен 8-10 күнгө созулат. Андан кийин ферментациянын негизги процесси башталат. Бул үчүн чөйрөгө 6 % түү уксус жана 3 % түү спирттин эритмелерин кошот. Мындан башка чөйрөгө белгилүү

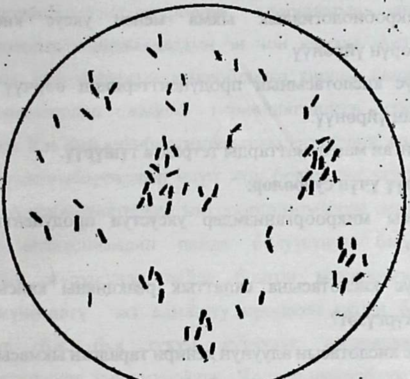
катышта калийдин фосфатын жана аммонийдин сульфатын кошот. Азык чөйрөнү генератордун жогору жагынан бирдей деңгээлде акырын агызып куят. Процесс турукташкандан кийин күнүгө генераторго азык чөйрөдөн 16-20 % көлөмдө кошуп турат. Генератордогу бөлүкчөлөрдү алмаштырбаса деле процесс бир канча жылга созулушу мүмкүн. Генератордун өндүрүмдүүлүгү бир күндө 1 $м^3$ да 29 кг 100 % - түү уксус кислотасын өндүрөт. Теоретикалык жактан 100 л суусуз спирттен 103 кг уксус кислотасын алууга болот, ал эми практикалык жактан буулангандан, кайрадан кычкылдангандан, спирттин толук эмес кычкылданышынан кийин 75-93 кг уксус кислотасы алынат. Азыркы убакта рециркуляция ыкмасы кеңири колдонулат, мында агып чыккан эритме бир канча жолу генераторго келип түшөт.

Уксус кычкыл бактерияларын бөлүп алуу. Уксускычкыл бактериялары жаратылышта кеңири таркалган. Алар мөмө-жемиштерде, алкоголдуу суусундуктарда кездешет. Уксус кычкыл бактериялары этил спиртин уксус альдегидине кычкылдандырып, андан ары уксус кислотасына айландырат. Процесс аэробдук шартта гана жүргүзүлөт:

$$CH_3CH_2OH + O_2 \rightarrow CH_3COOH + H_2O + 490\ кДж.$$

Уксускычкыл бактериялары аз кыймылдуу, таякча сымал, 0,6-0,8 X 1,0-3,0 мкм чондуктагы эллиптикалык клеткалар, жалгыздап, кээде жупташкан же чынжыр түрүндө болушат. Көбүнчө үйлөгөнгө окшош инволюциондук форманы, тармактанган же жип сымал түзүлүштө болот (11-сүрөт). Уксус кычкыл бактериялары пиводон оной бөлүнүп алынат.

Генцианвиолет



11-сүрөт. Уксус кычкыл бактериялары *Acetobacter aceti.*

Иштин жүрүшү

Конус формасындагы колбага жука катмарда пиво куят (0,5-1,0). Пивонун көлөмүнүн чондугу тажырйбанын жүрүшүндө чон мааниге ээ, анткени уксус кычкыл бактериялары үчүн аэробдук шарттын түзүлүшү зарыл. Колбаны кебез тыгыны менен жаап, термостатка 30°С температурада 3-7 күн коет. Кийинки сабакта колбаны карап, пайда болгон пленка түрүндөгү катмарды мүнөздөп жазып, боелгон мазокту микроскоптон карап, уксус кислотасына сапаттык реакция жасайт. Бул үчүн суюктукту 10 %-түү соданын эритмеси менен нейтралдаштырып, ага темирдин хлоридинин (III) эритмесинен азыраак кошот. Аралашманы ысытат. Уксус кислотасынын бар экендиги темирдин ацетатынын (III) пайда болушу менен кызыл түскө өтөт.

Лабораториялык жумушту аткаруунун ирээттүүлүгү:

1. Микробиологиялык ыкма менен уксус кислотасынын өзгөчөлүктөрүн үйрөнүү.

2. Уксус кислотасынын продуценттеринин өөрчүү жана өсүү баскычтарын үйрөнүү.

3. Алынган маалыматтарды тетрадга түшүрүү.

Текшерүү үчүн суроолор:

1. Кайсы микроорганизмдер уксустун продуценттери болуп саналышат?

2. Уксус кислотасына сапаттык реакцияны кайсы ыкманын негизинде жүргүзөт?

3. Уксус кислотасын алуунун кенири таралган ыкмасын атагыла?

4.Этил спиртинен микробиологиялык жол менен уксус кислотасын өндүрүүнүн жетишкен жана жетишбеген жактарын атагыла?

Лабораториялык жумуш № 13

Тема: Кенири таркалган антибиотиктерди алуунун технологиясы

Сабактын максаты: Антибиотиктерди микробиологиялык жол менен алуунун технологиясын үйрөнүү.

Керектелүүчү материалдар жана каражаттар: *Penicillium* козу карынынын спорасы, флакондор, ферментер, 2 – 3 % - түү жүгөрү экстракты, 5 % - түү лактоза, 1,5 % - глюкоза, 0,5 - 1,0 % - түү аммонийдин сульфаты жана аммонийдин фосфаты, 0,3-0,6 % -түү антибиотиктердин туундусу-фенилуксус кислотасы, $CaCO_3$, чыпка кагазы, металлдардын туздары, органикалык эриткичтер (бутилацетат же амилацетат).

Иштин теоретикалык негизделиши

Антибиотиктер – микробдук клеткаларда синтезделүүчү фармацевтикалык кошулмалардын эң чоң классы. Антибиотиктер (anti- каршы, bios-жашоо) – микробдорго каршы таасир берүүчү, микроорганизмдердин жашоо тиричилигиндеги спецификалык продукталар. Кээ бир антибиотиктер гельменттердин жана жөнөкөй түзүлүштөгү жаныбарлардын өлүп жок болуусуна чейин таасирин тийгизет. Антибиотиктердин микроорганизмдерде синтезделиши – микробдук антагонизмдин пайда болуусунун бир формасы, эволюциянын жүрүшүндө пайда болгон микроорганизмдердин белгилүү мүнөздөгү зат алмашуу процесси менен байланышын чагылдырат, б.а. бул тукум куучулук өзгөчөлүк, ар бир антибиотиктин түрү үчүн мүнөздүү. Чоочун микробдук клеткаларга таасир этүү менен антибиотик анын өөрчүшүнүн олуттуу бузулуусуна алып келет.

Кээ бир антибиотиктер бактериалдардын көбөйүү мезгилинде клеткаларынын кабыкчаларынын синтезделишин төмөндөтүүгө жөндөмдүү, ал эми башкалары анын цитоплазматикалык мембранасынын өткөрүү жөндүмдүүлүгүн өзгөртүү менен зат алмашуу процессинин ингибитору болуп саналат.

Азыркы учурда бубак козу карындары, актиномицеттер ж.б. микроорганизмдер синтездеген 6000 ден ашуун антибиотиктер белгилүү. Демек, медициналык практикада болгону ондон ашуун антибиотиктер колдонулат (1-таблица).

Биологиялык таасири боюнча антибиотиктер: бактерияларга каршы (пенициллин, эритромицин, тетрациклин ж.б.), фунгициддерге каршы (нистатин, леворин ж.б.) жана ракка каршы (митомицин, актиномицин ж.б.) деп бөлүнөт.

Бубак козу карындарынын алты тукуму 1000 ден ашуун антибиотиктердин түрлөрүн өндүрүүгө катышат, бактериялардын эки тукуму 500 гө, ал эми актиномицеттердин үч тукуму 3000 ге жакын антибиотиктерди синтездейт. Актиномицеттердин арасынан

1-таблица.

Кеңири түрдө колдонулуучу антибиотиктер

Пенициллин	*Penicillium*	Оң Граммдык	Клеткалык кабыктын пайда болуусун басандатат
Цефалоспорин	*Cephalosporium*	Оң жана терс Граммдык	Бул дагы
Эритромицин	*Streptomyces erythreus*	Оң Граммдык	Рибосоманын функциясын басандатат
Стрептомицин	*Streptomyces griseus*	Оң жана терс Граммдык	Бул дагы
Тетрациклин	*Streptomyces ayerofaciens*	Оң жана терс Граммдык	Рибосоманын т-РНК менен байланышын төмөндөтөт
Полимиксин	*Bacillus polymixa*	Терс Граммдык	Цитоплазматикалык мембрананы бузат
Бацитрацин	*Bacillus subtilis*	Оң Граммдык	Пептидогликандын синтезин басандатат

Streptomyces тукумундагылар көбүрөөк пайда келтиришет (мисалы бир түрү *St.qriseus* 50 дөн ашуун антибиотикти синтездейт). 1940-жылдан 1970-жылга чейинки убакытта жылына ачылуучу антибиотиктердин саны 200 гө чейин өскөн. 1978-жылдары 5500 белгилүү антибиотиктердин ичинен 100 колдонулган.

Коммерциялык көз караш алып караганда кенири таралган антибиотиктер: пенициллиндер, цефалоспориндер жана тетрациклиндер. 2000-жылы антибиотиктерди дүйнөлүк масштабда өндүрүү 25000 т, анын ичинен 17000 т - пенициллиндер, 5000 т – цефалоспориндер түзгөн.

60-жылдардын орто ченинен баштап изилдөөчүлөр, көп сандаган патогендик бактериялардан алынган кенири колдонулуучу, туруктуу антибиотиктерден, белгилүү химиялык модификациялык структурага ээ болгон жаны түрлөрүнө өтө баштады.

Көп изилдөөлөр негизги антибиотиктердин химиялык структураларындагы каптал группаларынын өзгөргөндүгүнө негизделген (пенициллиндер, цефалоспориндер), б.а. жарым синтетикалык антибиотиктер алынган. Мисалы, пенициллиндин молекуласынын негизги бөлүгүнүн каптал группаларысыз 6-АПК (6-аминопенициллин кислотасы) түрүндө болот. Азыркы мезгилде пенициллиндин бардык туундуларын дүйнө жүзүндө 6 - АПК дан химиялык модификация жолу менен пенициллинамидаза ферментинин жардамында бөлүнүп алынат. Белгилей кетүүчү нерсе, антибиотиктерди өндүрүүнүн интенсификациясынын чон ийгиликтери -активдүү штаммдарды тандоо. Жаратылыштагы бубак козу карындар (жапайы түрлөрү) шарттуу түрдө 1 литр чөйрөдө 5-50 бирдик антибиотиктерди синтездейт. Өндүрүштө колдонулуучу

штаммдар пенициллинди 10-12 мин, стрептомицинди 2-3 мин эсе көп синтездейт ж.б. Мисалы пенициллиндин жогорку продукталуу штаммдары он жылдан ашуун аралыкта мутагенездин жана тандоонун 21 жолку айлануусунан кийин алынган. Мына ушулардан кийин он миндеген колониялар изилденип, текшерилип, микробдук клеткалар сыяктуу мутаген менен иштетилген. Көп өлчөмдө антибиотик берүүчү мутантты тапкандан кийин, ал мутагенездин жана тандоонун жаны айлануулары үчүн материал болуп кызмат кылат.

Пенициллиндин баштапкы штаммы 25 мг/л антибиотикти синтездеген. Андан кийин спонтанндык мутациянын натыйжасында 150 мг/л пенициллинди синтездеген штамм пайда болду. Рентгендик таасирден кийин 900 мг/л пенициллин берүүчү мутант бөлүнүп алынган. УФ нурун таасир этүүдөн кийин 550 мг/л антибиотикти синтездөөчү штамм бөлүнүп алынган. Жогорку продуктивдүү штаммдарды пайда кылууда (7 гр /л) химиялык мутаген катарында иприт колдонулган.

Антибиотиктерди өндүрүү процессин анализдөө менен белгилей кетчү нерсе, антибиотиктер экинчилик метаболиттердин катарына кирип жана алардын синтези продуценттин өсүү процесси токтогондон кийин башталат. Ошондуктан өсүүнүн биринчи этабында биомассаны топтоо максатка ылайык (бул учурда антибиотиктер синтезделбейт). Антибиотиктердин биосинтези культураны өстүрүүнүн экинчи этабында башталат, бирок бул учурда продуцентти өстүргөнгө кеткен убакытка караганда биосинтезге кеткен убакыт 2-3 эсе көбүрөөк кетиши мүмкүн.

Пенициллинди биосинтездөө. Пенициллинди терен ферментация ыкмасында (б.а. суюк азык чөйрөсүндө) алышат. Продуцент катары

Penicillium тукумуна кирген бубак козу карындары колдонулат. Продуценттин баштапкы культурасы спора түрүндө колдонулат. Аларды флакондордо 25-27°С температурада 4-5 күн өстүрөт. Мицелийди ферментердун 5-10 % көлөмүн ээлеген абалда көбөйтөт. Пенициллинди синтездөө үчүн азык чөйрөсүн 2-3 % - түү жүгөрүнүн экстрактынан, 5 % - түү лактозадан, 0,5-1 % - түү аммонийдин сульфатынан жана фосфатынан, 0,3-0,6 % - түү антибиотиктердин туундусу- фенилуксус кислотаынан даярдалат. Чөйрөнүн рН труктуу кармоо үчүн $CaCO_3$ колдонулат. Ферментацияны 22- 26°С температурада, рН чөйрөсү 5,0- 7,5 болгон, интенсивдүү аэрациялоо менен жүргүзөт. 4 күндө пенициллиндин саны максималдык чекке жетет (10000 бирдик⁄мл чейин). Мицелийди фильтрлөө менен бөлүп алып, аны мал чарбачылыгында малдарга белоктун жана витаминдердин булагы катары колдонулат. Культуралдык суюктуктан пенициллин бөлүнүп алынат (фильтраттын курамында 3-6 % кургак зат кармалып, анын ичинен болгону 15-30 % пенициллин түзөт). Белоктук кошулмаларды металлдардын туздары менен чөктүрүп жана денатурациялоо менен тазалашат. Пенициллинди эки жолу органикалык эриткичтер менен экстракциялайт (бутилацетат же амилацетат менен). Экстракциялоонун натыйжасында продуктанын тазалыгы 4-6 эсе жогорулайт (активдүүлүгү 30000-50000 бирдик⁄мл).

Бутилацетат менен экинчилик экстракциялоо экстрактын активдүүлүгүн 50000 - 70000 бирдик⁄мл чейин жогорулатат. Пнициллиндин чыгышы культуралдык суюктуктагы баштапкы санынан 86 % түзөт. Пенициллинди 6 - АПКга ферментативдик айлантуу (модификациялоо) *Bacillus meqatherium жана E. coli*

культураларынын жардамында жүргүзүлөт жана пенициллинамидаза ферментин синтездейт.

Антибиотиктерди тамак-аш өндүрүшүндө колдонуу ар түрдүү продукталарды термикалык иштетүүдөн (консервациялоодо ж.б.) кеткен чыгымды экономдоо менен алардагы биологиялык активдүү заттардын, продуктанын даамынын толук кармалышын камсыздайт. Колдонулуучу антибиотиктер негизинен ысытууга туруктуу болгон термофилдик бактерияларга таасир этет. Мисалы, жашылча-жемиштерди консервациялоодо көбүрөөк колдонулуучу антибиотик-низин. Ал адамдардын организми үчүн уулуу эмес жана консервациялоочу продуктаны иштетүүдө эки эсе убакытты экономдойт.

Акыркы жылдар аралыгында антибиотиктерди айыл чарбасында жаныбарлар жана канаттуулар үчүн өсүүнүн стимулятору катары колдонушууда. Антибиотиктердин стимулятордук механизмдеринин таасири ичегилердин микрофлорасына жана жаныбарлардын организмине эки фактордун таасир этүүсү менен байланышкан. Биринчи учурда антибиотиктер жаныбарлардын организми үчүн зыяндуу болгон микробдордун санын азайтат, пайда болгон уулуу заттар микробдордун метаболизм процессинин жүрүшүн өзгөртөт. Экинчи учурда, тамакка болгон керектөө процессин тездетет жана организмдин ар түрдүү жагымсыз шарттарга туруштук берүү жөндөмдүүлүгүн арттырат. Азык болуучу антибиотиктерди таза эмес препараттар түрүндө кабыл алышат, антибиотик составында аминокислоталарды, В группасындагы витаминдерди, ферменттерди жана башка биологиялык активдүү заттарды кармаган продуценттин кургатылган биомассасы түрүндө колдонулат. Медициналык антибиотиктерди азыктандыруучу препарат максатында

колдонуунун чектелиши (пенициллин, биомицин), жугуштуу ооруларды айыктырууда айыктыруу эффектин төмөндөтүп коркунуч алып келүүсүнө байланышкан. Азык болуучу антибиотиктерди өндүрүүдө көбүнчө актиномицеттерди колдонушат. Мурунку СССРде хлортетрациклиндин продуцентинин *Actinomyces rimosus* негизинде, негизги азык болуучу антибиотик болуп биовит (-20,-40,-80) саналган (1кг препаратта таза антибиотиктин кармалышы 20,40,80) (Препараттар өсүүнүн стимулятору катары жаш айыл чарба жаныбарларынын ичеги-карын ооруларын айыктыруу үчүн колдонулган. Сырткы көрүнүшү боюнча биовит күрөн түстөгү гомогендүү порошок, салмагы 10-20 кг болгон кагаз баштыктарында чыгарылат.

Антибиотиктерди ар түрдүү фитопатогендерге каршы каражат катары колдонот. Өсүмдүктөрдүн фитопатогендик микроорганизмдер менен залалданышынын жолдору ар түрдүү. Антибиотиктиктердин таасири, өсүмдүктөрдүн уруктарында жана вегетативдик органдарында жайгашкан фитопатогендик микроорганизмдердин өөрчүү жана өсүү процесстерин токтотот. Антибиотиктерге колдонулуучу препараттар жогорку активдүүлүктөгү, оору козгогучтарга каршы, өсүмдүк үчүн зыянсыз, өсүмдүктүн керектүү органдарына оной таркалуучу жана көпкө чейин антибиотикалык активдүүлүгүн сактоого жөндөмдүү болуусу керек. Фитопатогендер менен күрөшүүдө кенири колдонууга ээ болгон антибиотиктерге фитобактериомицин, трихотецин жана полимициндер кирет. Фитобактериомициндин продуценти болуп *Actinomyces lovendulae* саналат. Препараттар дуст, ар түрдүү концентрациядагы суспензия түрүндө өндүрүлүп, пахтанын оорусуна, буудайдын тамырын чиритип жиберүүчү мителерге ж.б. колдонулат.

Трихотецин антибиотигинин продуценти болуп *Trichothecium roseum* бубак козу карынынын штаммы саналат. Трихотецин мөмөлөрдүн, дан өсүмдүктөрүнүн, тамекинин, жашылчалардын ар түрдүү зыянкечтерине каршы колдонулат.

Лабораториялык жумушту аткаруунун ирээттүүлүгү

1. Антибиотиктердин продуценттеринин өсүү, өөрчүү стадияларын үйрөнүү.

2. Лабораторлук шартта тыгыз азык чөйрөсүндө *Penicillium* тукумуна кирген бубак козу карынын өстүрүү жана алынган заттын антибиотикалык касиетин байкоо.

3. Алынган жыйынтыктарды тетрадга түшүрүү.

Текшерүү үчүн суроолор:

1. Кайсы микроорганизмдер ферменттик препараттардын продуценттери болуп саналышат?
2. Кенири колдонулуучу антибиотиктерди атагыла.
3. Терен жана тыгыз ферментация ыкмаларынын пайдалуу жана жетишпеген жактары эмнеде?

Лабораториялык жумуш № 14

Тема: Мөмө-жемиштерден алынган ширелердин жана винонун микроорганизмдери

Сабактын максаты: Мөмө-жемиштерди иштетүүдөгү микроорганизмдердин өзгөчөлүктөрүн жана түрдүк курамын үйрөнүү.

Керектелүүчү материалдар жана каражаттар:

Saccharomyces тукумундагы таза культуралар (*S. Ellipsoideus, Saccharomyces vini жана Saccharomyces oviformis*), *Lactobacterium manitopeum, Shizosaccharomycetes asidodevoracs, Acetobacteг vini acetati, Bacterium viskosi vini, Bacterium tartararum,* кебез тыгыны бар пробиркалар, пергаменттик кагаз, химиялык карандаш, автоклав, колба V=1 л, спирт шамы, хлордуу же фосфор-кычкыл аммоний, суу банясы, микробиологиялык иймек, сусло, шире чыгаргыч машина.

Иштин теоретикалык негизделиши

Учурдун талабына ылайык ширелерди өндүрүү ферменттердин катышуусусуз элестетүү мүмкүн эмес, алардын ичинен негизги орунду полигалактуроназалардан, пектинметилэстеразалардан ж.б. түзүлгөн ферменттердин пектиназалык комплекси ээлейт.

Классикалык биотехнологиялык процесс болуп вино өндүрүү саналат. Вино өндүрүү, белгилүү болгондой, мөмө-жемиштерден алынган ширелердин ачыткычтарынын өзгөчө штаммдары менен ачытууга негизделген, көбүнчө *Saccharomyce*s тукумундагы мисалы, *S. ellipsoideus*.

Муундан муунга өтүп келе жаткан вино өндүрүүнүн традициялык ыкмалары азыркы күндө биотехнологиянын негизги ыкмалары менен өндүрүү жолуна айланды.

Мөмө-жемиштердин ширелерин даярдоонун жана сактоонун техникасы иштелип чыгып, гендик инженериянын жардамында жогорку продукталуу ачыткычтардын жаны штаммдары түзүлүп, иммобилизацияланган клеткаларды колдонуу менен ширелерди ачытуунун үзгүлтүксүз процесстери иштелип чыгууда.

Микроорганизмдер мөмө-жемиштерде, абада, топуракта, сууда көп санда кездешет. Алар өндүрүштүк жайларда: идиштерде, керектелүүчү каражаттарда ж.б. кездешет. Өзгөчө түшүм жыйноо мезгилинде урунду болгон, бузулган мөмө-жемиштерде микроорганизмдер тез көбөйүшөт. Суслого микроорганизмдер шире чыгаруу мезгилинде же сырену майдалаган учурда түшөт.

Микроорганизмдердин түрдүк курамы ар түрдүү жана мөмө-жемиштерди иштетүүдө ачыткычтар, уксус кычкыл жана сүт кычкыл бактериялары, бубак козу карындар менен иштөө жүргүзүлөт. Көпчүлүк микроорганизмдер вино өндүрүүгө өзүнүн терс таасирин тийгизет, алар сырьену бузуп жиберет, виноматериалдын бузулушуна алып келет жана ар түрдүү вино ооруларын алып келип, даярдалган продуктанын сапатын төмөндөтөт.

Вино өндүрүүдө көбүнчө ачыткычтар менен иштөө талап кылынат, бирок алардын баары эле пайдалуу боло бербейт (алардын кээ бирлери зыяндуу). Ачыткычтар сумкалуу козу карындардын классына кирет жана алар споралары менен да, спорасыз да көбөйүүгө жөндөмдүү. Ачыткычтар ар түрдүү болушат. Мисалы, *Sacharomycetae* уруусунда ачыткычтардын 17 тукуму кирет, анын ичинде практикалык чон мааниге ээ болгон *Sacharomyces* тукумундагы ачыткычтар кирет. Бул ачыткычтар бөлүнүү жолу менен көбөйүшөт.

Shysosacharomycetes тукумундагы ачыткычтар башка урууга таандык болуп, вино өндүрүүгө жараксыз, анткени суслонун кычкылдуулугун төмөндөтүп виноматериалдын бузулуусуна алып келет. Ошондуктан аларды кычкылдуулукту азайтуучулар деп аташат. Вино өндүрүүдө канттарды ачытуу үчүн жана спирт алуу

үчүн *Saccharomyces vini* жана *Saccharomyces oviformis* түрүнө кирген вино ачытуучу ачыткычтар колдонулат. Биринчи кантты 16 % түү спиртке чейин ачытат, экинчи спиртке туруктуулугу боюнча айырмаланат да, кантты 18-19 % - түү спиртке чейин ажыратат. Булардан башка, вино өндүрүүдө зыяндуу болгон жапайы ачыткычтар болот. Аларды көпчүлүк мезгилде ачуу процессинин «сорняктары» деп аташат. Жапайы ачыткычтар вино ачытуучу ачыткычтардын өөрчүшүн басандатуучу заттарды бөлүп чыгарышат жана винонун даамын бузат, винонун чангылттануусуна, оорунун пайда болуусуна алып келет, спирт пайда кылуу үчүн көп сандагы кант керектелет. Мөмө-жемиштерде жана суслодо жапайы ачыткычтардын дагы башка түрлөрү кездешет. Винонун сапатына кескин түрдө ачыткычтардан башка бактериялардын кээ бир түрлөрү да таасирин тийгизет. Винодо оору пайда кылуучу болуп негизинен таяк сымал сүт кычкыл бактериялары - *Lactobacterium manitopeum* эсептелет. Алар виноматериалдагы кантты сүт жана уксус кислоталарына чейин ачытып, фруктозадан маннитти пайда кылат б.а. манниттик ачуу деген винонун оорусунун пайда болуусуна алып келет. Сүт кычкыл коккилер алма кислотасын сүт кислотасына жана көмүр кычкыл газына чейин айлантат, натыйжада суслонун же винонун титрдик кычкылдуулугу азаят. Бул ачыткыч бактериялар *Shizosaccharomycetes asidodevoracs* сыяктуу эле биологиялык кычкылдуулукту азайтуучулар болуп эсептелишет.

Вино өндүрүүдө уксус кычкыл бактериялар аз эмес кыйынчылыктарды жаратышат. Алардын 20 дан ашуун түрлөрү белгилүү (кээ бирлери вино өндүрүүдө кездешет). Алар винонун үстүнкү бетинде жука катмарды пайда кылуу менен өөрчүйт

жана пайда болгон спиртти уксуска айландырат. Мындай бактериялар *Acetobacter vini acetati* формага ээ болбогон пленканы пайда кылуу менен винонун үстүнкү катмарынан төмөн көздөй чангылттанууну пайда кылат. Илээшкектүүлүктү пайда кылуучу бактериялар (*Bacterium viskosi vini*) анаэробдук шартта, винодо илээшкектүүлүктү пайда кылуу менен өөрчүйт. Турна бактериялары *(Bacterium tartararum)* фруктозадан маннитти пайда кылып, алма кислотасын ажыратат, натыйжада вино ооруга чалдыгат. Бактериялар винодо жагымсыз даамды жана жагымсыз жытты пайда кылышат.

Вино өндүрүүдө винонун сапатын төмөндөтүүчү ар түрдүү бубак козу крындарынын пайда болуусу да мүмкүн. Жапайы ачыткычтардын, бактериялардын, козу карындардын өөрчүп көбөйүүсү ширелерди, винону жана суслону өндүрүүдө кайталангыс, өзгөрбөгөн процесс болуп, продуктанын сапатын кескин төмөндөтүүгө алып келет. Ошондуктан ширелерди жана винону өндүрүүдө маал-маалы менен текшерип туруу жана ар түрдүү ыкмалар менен зыяндуу микроорганизмдер менен күрөшүп туруу зарыл. Мисалы, ширелерди ачытуудан мурда жапайы микрофлорадан тазалоо үчүн 2-3 мүнөт 80—85°С да пастеризациялайт же 30 мүнөт 70°С ысытат. Ширелерди ачытууда винонун негизги көрсөткүчтөрүн аныктоочу көптөгөн заттар пайда болот. Бул болсо вино өндүрүүчүлөргө спирттик ачууга көбүрөөк көнүл бөлүүсүнө милдеттендирилет. Вино ачытуучу ачыткычтар көп түрдүү расаларга бөлүнөт. Сырткы белгилери боюнча алар анчалык айырмаланышбайт, бирок спиртти пайда кылууда, канттарды ажыратууда, температурадан көз карандылыгына, күкүрттүү ангидриддин

концентрациясына, чөйрөнүн кычкылдуулугуна болгон өзгөчөлүктөрү боюнча ж.б. кескин айырмаланышат. Вино өндүрүүдө расаларды тандоо чон мааниге ээ. Мында бир клетканын бөлүнүүсүнөн пайда болгон бир түрдөгү клеткалардан алынган таза культуралар өтө баалуулукка ээ. Аларды атайын сырьелордун түрлөрүнө жана винонун тибине жараша тандап алышат. Вино ачытуучу ачыткычтардын таза культуралары алдын ала пландаштырылган тапшырма боюнча винонун сапаттуу сортторун алууга мүмкүндүк берет. Алар тез көбөйүүгө жөндөмдүү болуп, суслону толук ачытуу менен жапайы ачыткычтардын өөрчүшүнө жол бербейт. Таза культура аркылуу өндүрүлгөн винодо өз алдынча өндүрүлгөн виного караганда учуучу кислоталар аз санда кармалат, тез тунат жана ар түрдүү ооруларга азыраак кабылат. Таза культураларды сактоодо пробирканын оозу кебез тыгын менен бекем жабылып, пергаменттик кагазга оролуп, кургак жерде 15°С дан жогору болбогон температурада сакташат. Сактоо мөөнөтү эгилген күндөн баштап 30 күндөн ашпоо керек. Ар бир пробирканын сыртына кайсы күнү эгилгени тууралуу этикетка жазылат. Таза культураны колдоноордон 6-8 күн мурда культураны көбөйтөт. Жаңы даярдалган ширеге 1 литрине 6-8 г культураны даярдайт. Жаңы сыгылган мөмөнүн ширесин алып, аны 1 литрине 6-8 г кычкылдуулукту сактагандай абалда суюлтуп, андан кийин 20 % ке чейин кант кошот жана 1 литрде 0,5 г фосфор кычкыл аммонийди же хлордуу аммонийди кармаган азоттуу азык чөйрөсүнө жайгаштырат. Алынган суслону стерилдейт. Бул үчүн суслону бир литрлик колбага колбанын ооз жагынын бетине суслону тийгизбей 2-3 көлөмдө куят да, колбаны

кебез тыгын менен оозун жаап 1 саатка чейин кайнатат. Андан кийин суслону 20° С чейин муздатып, микробиологиялык иймекти спирт шамында жакшылап күйгүзүп (кээде электроспираль колдонулат) пробиркадагы таза культурадан колбага эгилет. Кээде пробиркага суслодон куюп чайкап, андан кийин колбага куйса да болот. Бул учурда микроорганизмдер менен иштөөнүн бардык эрежелерин сактоо талап кылынат. Кебез тыгын менен жабылган колба 20—25°С да сакталат. 2-3 күн өткөндөн кийин сусло ачый баштайт. Ачыткычтардын андан ары көбөйүшү үчүн ушул эле ыкма менен 8-10 литрлик сырдалган идиште сусло даярдалат. Суслону 15 мүнөт кайнатып, 20°С га чейин муздатат жана ага ачытылган колбадагы культурадан куят. Бир канча убакыт өткөндөн кийин ачуу процесси күчтүү жүрө баштайт жана ага кийинки жаны даярдалган суслодон кошуп турат. Мурдагы даярдалган суслодон (таза культурасы бар) ачытуучу идиште 10% ке чейин калышы керек. Жаны даярдалган культуранын эритмесин өндүрүштө бир күндөн ашык эмес колдонот. Андан ары вино ачытуучу ачыткычтардын таза культуралары катарында ачытылган ширени колдонууга болот. Бирок убакыттын өтүшү менен ачытылган ширеде керексиз микрофлоралар пайда боло баштайт. Ошондуктан таза культуралардын жаңы эритмелерин мезгил-мезгили менен даярдашат. Мөмө-жемиштердин ширелерин сууда көбүрөөк суюлтканда азоттук заттардын кармалышы аз болот да, ачыткычтардын көбөйүшү акырындайт. Ошондуктан мындай суюлтулган ширелерге: моюлдун, карагаттын, четиндин жана башка жапайы өсүүчү жемиштердин ширелерине 1 литрине-0,2-

0,5 г ачытаардан мурда эки негиздүү хлордуу же фосфор кычкыл аммоний кошот.

Лабораториялык жумушту аткаруунун ирээттүүлүгү:

1.Мөмө-жемиштерди иштетүүдө колдонулуучу микроорганизмдердин негизги өгөчөлүктөрүн үйрөнүү.

2.Мөмө-жемиштерди иштетүүдө колдонулуучу микроорганизмдердин жана тандалган түрлөрдүн өзгөчөлүктөрүнө салыштырмалуу мүнөздөмө берүү.

Текшерүү үчүн суроолор:

1. Вино өндүрүүдө жана мөмө-жемиштерди иштетүүдө микроорганизмдердин кайсы түрлөрү катышат?
2. Винонун оорусун пайда кылуучу микроорганизмдерди санагыла жана алардын жашоо тиричилигинде кандай процесстер жүрөт?
3. Вино ачыткычтарды эмне үчүн колдонушат?

Лабораториялык жумуш № 15

Тема: Вино өндүрүүдө суслону ачытуунун биотехнологиялык процесси.

Сабактын максаты: Вино өндүрүүдө суслону ачытуунун биотехнологиялык процессин үйрөнүү.

Керектелүүчү материалдар жана каражаттар: Сыгылган ширени ачытуу үчүн чан, вино ачытуучу ачыткычтардын культуралары, сусло, аммонийдин фосфор кычкылы жана

аммонийдин хлориди, сырье, күкүрттүү ангидрид, бетонид, полиакриламид, шланг, спирт.

Иштин теоретикалык негизделиши

Сусланы ачытуу процесси атайын ачытуучу чандарда жүргүзүлөт. Ачыткыч культураларды суслага кошкондон кийин ачыткычтардын өтө ылдам көбөйүшү башталат.

Ачыткычтардын культураларын ачытылуучу ширенин көлөмүнөн 2-3 % ин алат, ал эми кээ бир учурларда, мисалы ширенин курамында башка чоочун микрофлоралар болсо, же ачытылуучу шире үчүн төмөнкү температура болсо, анда жалпы көлөмдүн 5% ин алат. Экинчи күнү көп өлчөмдөгү спирттин пайда болушу менен көмүр кычкыл газы бөлүнүп чыгып, ачуу процесси өтө тез ылдамдыкта жүрө баштайт. Тез ачуу процесси 3-4 күнгө созулат, андан кийин канттын толук ажырап бүтүшү менен процесс токтойт. Ачуу процессинин жалпы жүрүшү (спирттин бөлүнүп чыгышы) 5 % ке чейин 8 күнгө, ал эми 8% ке чейин 10-12 күнгө созулат. Бул учурда ширенин курамындагы кант жана кошумча кошулган кант спиртке айланат. Ширенин курамында процесске катышпай калган кант 0,5% (100 мл - 0,5 г) түзүшү мүмкүн.

Сусланын ачышы кээде ачуу процессине катышпай калган канттын натыйжасында токтоп калат. Бул көрүнүш сусланын өтө жогорку же өтө төмөнкү температурада болгондо, ошондой эле азоттун кошулмалары азык чөйрөсүндө жеткиликтүү болбогон учурда жана тез учуучу кислоталардын көп санда жыйналуусунан байкалат. Ачуу процессинин пайда болушун билүү үчүн, анын токтоо себептерин тактоо керек. Ал үчүн

сусланы чандын оозун ачык түрдө коюп б.а. сусланы шамалдандыруу менен ачыткычтардын жаны жаш культураларын пайда кылуу, оптималдык температураны түзүү менен суслада азоттук заттардын жетишсиздигине байланыштуу аммонийдин фосфор кычкылын же аммонийдин хлоридин кошот ж.б. Ачуу процессинин пайда болушу зарыл, анткени сусланын курамындагы ачуу процессине катышпай калган кант керексиз микрофлоранын көбөйүп кетиши үчүн жагымдуу чөйрө болуп калат.

Ачуу процессинин убагында ошол процесс жүрүп жаткан жерде адамдардын ден соолугуна зыян келтирбеген көмүр кычкыл газы көп өлчөмдө жыйналат. Ошондуктан ачытуучу чанды жана ошол жерди күнүнө 5-6 жолу жакшылап шамалдатат, процесс жүрүүчү жерде 1 саатына 3 эсе аба алмашып турушу зарыл.

Үзгүлтүксүз ачуу процесси.

Сусланы үзгүлтүксүз ачытууда винонун даяр болуу процесси тездейт жана кант аз сарпталат.

Ширелердин ачуу процессинин технологиясы төмөндөгү операциялардан турат. Жаны даярдалган ширени шире чогулткучта сульфиттейт (12-сүрөт) 50-100 мг күкүрттүү ангидридге 1 л шире кошулат. Андан кийин ширени аралаштыргычтар менен аралаштырып резервуарга куюп, полиакриламиддин жана бентониттин кошулмалары менен жабыштырат. 1 л ширеге 2-3 г бентонид, 10-15 г акриламид сарпталат.

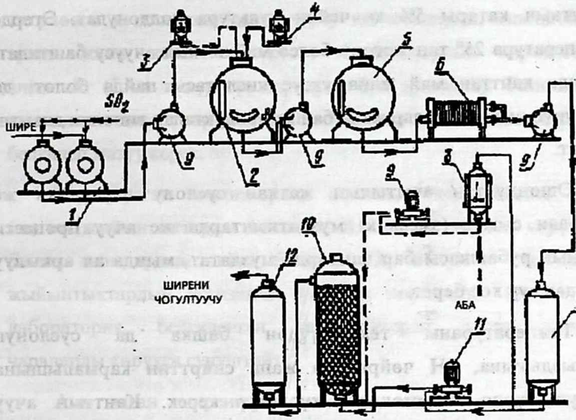
Бентониддин суспензиясы аралаштыргыч аркылуу резервуарда даярдалат. Бентонит менен жабыштырылгандан кийин ширени тундуруу үчүн резервуарга куюп алат да 10-20 саат коюп коет. Тундурулган ширеге зарылчылыгына жараша кант кошот да 85^{0}С пастеризациялап, 2-3 мүнөттүн ичинде аралык резервуарга куюп алат. Баштапкы мезгилинде шире, бул резервуардан ачыткычтардын көбөйүшү үчүн жана аба менен камсыз болуу үчүн азык чөйрө катарында ачыткычы бар чанга келип түшөт. Ачыткычтардын культураларын бөлүкчөлөр менен бирге насос аркылуу сордуруп ачытуучу аппаратка куят. Андан ары ачытуучу аппаратта ширенин ачышы менен бирге ачыткычтардын көбөйүшү жүрөт. Сусла 0,3 % ке чейин кант калгыча ачып бүткөндөн кийин процессти үзгүлтүксүз агымга өткөрөт. Пастеризацияланган шире аралык резервуардан өлчөөчү насостун жардамында ачытуучу аппараттын төмөнкү бөлүгүнө келип түшөт.

Сусла 0,3 % ке чейин кант калгыча ачып бүткөндөн кийин процессти үзгүлтүксүз түрдө ачытуучу аппараттан кабыл алуучу резервуарга алып өтөт да бул жерде сульфиттөө процессин ишке ашырат (1 л ширеге 100 мг күкүрттүү ангидрид).

Кабыл алуучу резервуардан ачытылган ширени андан аркы технологиялык иштөөлөр үчүн куюштурат. Үзгүлтүксүз ачуу процессинде кислоталарды биологиялык жоготуу жокко эсе, анткени вино ачытуучу ачыткычтардын көбөйүшү үчүн жакшы шарт түзүлөт. Суслону ачытуудан алынган виноматериал жагымдуу даамы жана жыты менен айырмаланып турат.

Ачуу процессинде дайыма техно - химиялык жана микробиологиялык текшерүүнү жүргүзүү зарыл. Ачуу процессин

жүргүзүүдөн мурда лабораторияны жакшылап текшерүү керек, мисалы шамалдаткычтын иштөөсүн, керектүү температураны туруктуу кармап туруу ж.б., ферментердун тазалыгын, анын сусла менен толтурулуш нормаларын ¾ көлөмдөн ашпоо керек экендигин карап чыгуу керек. Ферментерду оозуна чейин толтуруу мүмкүн эмес, анткени ачуу процесси жүргөн учурда көп сандагы көбүк пайда болуп ферментердон ашып кетет.



12-сүрөт. Үзгүлтүксүз агымда сусланын ачуу процессинин технологиялык схемасы:

1 — шире чогулткучтар; 2—аралаштыргычы бар резервуар; *3*—бетониттин суспензиясын даярдоо үчүн резервуар; *4*—полиакриламиддин эритмесин даярдоо үчүн резервуар; 5—ширени тундуруу үчүн резервуар; *6*—пластинкалуу пастеризатор; *7*—шире үчүн аралык резервуар; *8*— дрожжанка; 9—насос; *10*— ачытуучу

аппарат; 11—дозировкалоочу насос; *12*—ачыган ширени чогултуучу резервуар.

Ачуу процесси жүрүп жаткан учурда температурага көзөмөл жүргүзүү керек (оптималдык температура 20-25⁰ С). Төмөнкү температурада ачуу процессинин жүрүшү төмөндөйт. Мындай учурда вино ачытуучу ачыткычтардын суукка туруктуу болгон расаларын колдонот (Сидр № 101, Минск № 120 ж.б.), ал эми ачыткыч катары 5% ке чейин культура колдонулат. Эгерде температура 25° тан жогору болсо майкычкыл ачуусу башталат, мында канттан май жана уксус кислотасы пайда болот, да бөлүнүп чыккан газдар жана башка продукталар винонун даамын бузат.

Ошондуктан ачытылып жаткан суслону пластинка же жылаан сымал (змеевик) муздаткычтарда же ачуу процесси атайын рубашкасы бар чандарда муздатат, мында ал аркылуу муздак суу кое берет.

Температураны текшерүүдөн башка да суслонун тыгыздыгына, pH чөйрөсүнө жана спирттин кармалышына толук түрдө көзөмөлдөө жүргүзүү керек. Канттын ачуу процессинин натыйжасында суслонун тыгыздыгы төмөндөйт, ал эми спирттин кармалышы көбөйөт. Лабораторияда канттын ажыроо даражасы текшерилет.

Суслонун кычкылдуулугу кычкылдуулукту төмөндөтүүчү ачыткычтардын пайда болуусунан азая башташы мүмкүн. Эгерде микробиологиялык текшерүү алардын пайда болушун тактап берсе, анда биологиялык кычкылдуулукту азайтуунун чаралары көрүлүүсү зарыл.

Микробиологиялык текшерүүнү жүргүзүүдө микроскоптун жардамында, культураны эгүүдө вино ачытуучу жана жука катмар пайда кылуучу ачыткычтардын, уксус кычкыл жана сүт кычкыл бактерияларынын, бубак козу карындарынын санын тактайт.

Суслага же виноматериалга химиялык анализ жүргүзүүдө тыгыздыгын, канттын проценттик катышын, ачуу процессинде титрлөөгө кеткен көлөмдү, учуучу кислоталарды, ошондой эле эркин жана жалпы күкүрттүү кислоталардын кармалышын аныктайт (1 мг күкүрттүү ангидрид 1 л эритмеге). Техникалык-химиялык текшерүүнүн бардык жыйынтыктарын атайын журналга белгилеп жазуу керек.

Жүргүзүлгөн анализдердин негизинде кондициядан пайда болгон жыйынтыктарды жасашат, б.а. анын сырткы көрүнүшү, башка даамдардын пайда болушу ж.б. жөнүндө. Аныкталган жыйынтыктардын негизинде суслонун нормалдуу ачышы үчүн лаборатория, белгиленген кемчиликтерди жоюу жөнүндө чараларды көрүүгө сунуштайт.

Ачытылган ширени аз өлчөмдө спирт кармагандыгына байланыштуу, эки күндөн ашуун убакытка сактоого мүмкүн эмес. Ошондуктан ачытылган ширени дароо иштетип, белгилүү өлчөмдө спирт кошот. Эгерде мажбур түрдө сактоо керек болуп калса, анда аны күкүрттөйт да, андан кийин спирт кошуп сактоо үчүн идиштерге куят. Спирттөөдөн мурда ачыткычтардын чөкмөсүнөн бөлүнүп алынган ширени тыныктыруу менен тундурат же бетонит кошуп тыныктыруу менен тундурат.

Ачытылган же натуралдык ширеге спирт кошууда акырындан, жакшылап аралаштыруу менен, ачытылган ширенин сапатына жараша спиртти бөлүп-бөлүп кошот. Бул учурда спирт кошкондон кийин ачытылган ширеде чөкмө пайда болот. Ошондуктан аны 3-7 күн тынытырып тундуруп, андан кийин чөкмөдөн бөлүп алат. Кээ бир учурларда ачытылган ширени биринчи сепарация аркылуу тундуруп алып, андан кийин спирт кошот.

Ачытылган ширени чөкмөдөн акырын чангылттанып кетпегендей абалда куюп алат. Эгерде чөкмө көп болуп куйгуч крандан жогорураак болсо, анда идиштин үстүнөн шланг түшүрүп, чөкмөгө тийгизбестен ширени бөлүп алат. Эгерде ачытылып спирттелген ширени дароо заводго экинчилик вино жасоо үчүн жөнөтсө (колхоздордо, совхоздордо көпчүлүк учурларда биринчилик вино жасоо чектелүү болот), чөкмөдөн бөлүп алгандан кийин сапаттуу виноматериал алуу үчүн жакшылап иштетишет. Көпчүлүк колхоздордо жана совхоздордо экинчилик вино жасоо процессин жүргүзүшөт б.а. виноматериалды даяр винонун кондициясына чейин ачытышат. Бул учурда виноматериалды чөкмөдөн бөлүп алгандан кийин кайрадан иштетпестен эле сактоого болот.

Лабораториялык жумушту аткаруунун ирээттүүлүгү:

1. Суслону ачытуу процессин жүргүзүү үчүн шарттарды тандоо.
2. Ачуу процессинин жүрүү узактыгын жана процесстин токтоо себептерин аныктоо.

3. Үзгүлтүксүз ачуу процессинин маанисин аныктоо.
4. Техно-химиялык жана микробиологиялык текшерүүнүн манызын аныктоо.

Текшерүү үчүн суроолор:

1. Вино өндүрүүдө суслону ачытуу кайсы аппараттарда жүргүзүлөт?
2. Эгүү мезгилинде ачыткычтардын концентрациясын кандай санда алышат?
3. Ачуу процессинин жалпы узактыгы канча?
4. Ачуу процессин токтотуунун негизги себептери болуп эмнелер саналат?
5. Үзгүлтүксүз ачытуу ыкмасы эмнеге негизделген?
6. Ачуу процессинин технологиялык схемасы кандай баскычтардан турат?

Лабораториялык жумуш № 16

Тема: Спирттик ачуу

Сабактын максаты: микробиологиялык ыкма менен спиртти өндүрүү технологиясын үйрөнүү.

Керектелүүчү материалдар жана каражаттар: колба V= 250 мл, сахароза, нан жасоочу ачыткыч, өлчөгүч цлиндрлер, тыгындар жана ийилген айнек түтүктөр, суу банясы, ток плитка, барит суусу, пробиркалар, спиртте күйүүчү шам, концентирленген күкүрт кислотасы, тыгын жабылган түз айнек түтүкчөсү, $K_2Cr_2O_7$.

Иштин теоретикалык негизделиши

Жаратылышта спирттик ачууну пайда кылуучу микроорганизмдер кенири таркалган. Буларга *Toruia* жана *Mycoderma* тукумуна кирген ачыткыч козу карындар жана *Mycor* тукумундагы козу карындар, кээ бир бактериялар киришет. Культуралдык ачыткычтар узакка созулган тандоодон кийин жапайы ачыткычтардан бөлүнүп алынган. Буларга *Saccharomyces cerevisiae* жана *Saccharomyces ellipsodens* кирет. Бул ачыткычтар жапайы ачыткылардан жогорку концентрациядагы спиртти кармоо жана ачуу процессинде аз сандагы кошумча продукталарды пайда кылуу менен айырмаланат. Бул ачыткычтардын катышуусу менен жүргөн ачуу процесси интенсивдүү жүрүп жакшы жыйынтыктарды берет.

Спирттик ачуу төмөнкү тендеме менен туюнтулат:

$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2 + 130\ кДж\ (31\ ккал)$$

Иштин жүрүшү

Көлөмү 250 мл болгон колбага 50 мл 20 %-түү сахарозанын жана 1 г нан жасоочу ачыткычтын эритмесин куят (20 % - түү сахарозанын эритмесин эки эсе суюлтулган 10 мл). (Ачыткыны сабак башталганга чейин 1 саат мурун активдүүлүгүн жогорулатуу үчүн жылуу жерге коюп коет). Колбаны ийилген айнек түтүгү бар тыгын менен жабат. Түтүктүн бир учун барий суусу бар пробиркага салып коет. Реакция жүрүп жаткан колбаны 35-40°С температурада суу банясына жайгаштырып мезгилдүү ысытат. Бир канча мүнөттөн кийин барит суусу бар пробиркага газдын бүртүкчөлөрү бөлүнүп чыга баштайт. Биринчи алар баш-аламан кыймылда болушуп, андан кийин 10-15 мүнөттөн кийин чынжыр сыяктуу бир калыпта бөлүнүп чыга баштайт. Бул убакта колбадагы бардык аба чыгат жана түтүк

аркылуу ачуунун бир продуктасы болгон көмүр кычкыл газы да бөлүнөт. Барий суусу CO_2 нин бөлүнүшү ($BaCO_3$ чөкмөгө түшө баштайт) менен чангылттана баштайт.

Ушул эле сабакта спирттин пайда болушун далилдөө мүмкүн эмес. Колбаны кебез тыгын менен жаап кийинки сабакка чейин коюп коюлат. Кийинки сабакта ошол эле сырьедон спиртти бир нече жол менен бөлүп алууга болот.

Кристаллдык йод менен болгон реакциясы

Пробиркага колбадагы суюктуктан үлгү үчүн алдын ала 10 %-түү NaOH эритмесин кошуп, пробиркадагы аралашманы кайнаганга чейин спирт шамында ысытат. Андан кийин йоддун бир нече кристаллын кошуп кайра ысытат. Бул учурда иодофорумдун жыты бар сары түс пайда болот.

$$\begin{array}{l} \qquad\qquad\qquad\qquad\quad H \\ \qquad\qquad\qquad\qquad\quad | \\ C_2H_5OH + 4J_2 \rightarrow CI_3\text{-}C\text{-}J + 4HJ \\ \qquad\qquad\qquad\qquad\quad | \\ \qquad\qquad\qquad\qquad\quad OH \end{array}$$

$$\begin{array}{l} \qquad\qquad\qquad\quad H \\ \qquad\qquad\qquad\quad | \\ CI_3\text{-}CH\text{-}J^0 \rightarrow CI_3\text{-}C + HJ \\ \qquad\;\, | \qquad\qquad\;\; \| \\ \qquad OH \qquad\quad\;\; O \end{array}$$

$$\begin{array}{l} CI_3\text{-}CH + NaOH \rightarrow HCOONa + CHJ_3 \\ \qquad\;\, \| \\ \qquad\;\, O \end{array}$$

Калий дихроматы менен болгон реакциясы

2-3 мл изилденип жаткан суюктукка калий бихроматынын кристаллын жана бир нече тамчы концентрацияланган күкүрт кислотасын кошуп, пайда болгон аралашманы спирт шамында ысытат.

Суюктуктун түсү хромдун калыбына келиши менен жашыл түскө өзгөрөт. Бөлүнгөн уксус альдегидин жыты боюнча билебиз.

Реакциянын жүрүшү:

$$K_2Cr_2O_7 + 4H_2SO_4 + 3\ C_2H_5OH \rightarrow K_2Cr_2(SO_4)_4 + 3\ CH_3CHO + 7\ H_2O$$

Спиртти буулантып айдоо менен бөлүп алуу

Сырье куюлган колбаны узундугу 40-50 см болгон түз айнек түтүкчө өткөн тыгын менен жаап, колбадагы сырье бирдей ысыганга чейин ысытып айнек түтүкчөнүн учуна чычаланы күйгүзүп текшерет. Спирттин бөлүнүп чыккан буусу күйүп, түтүктүн учунда бир нече секундга чейин жалын пайда болот. Колбаны өтө тез ылдамдыкта кайнатпоо керек, анткени сырьенун составындагы суюктук кошо бууланып чыгып кетет.

Лабораториялык жумушту аткаруунун ирээттүүлүгү:

1.Спирттик ачуу процессин жүргүзүү үчүн шарттарды аныктоо.

2. Буулантуу менен спиртти алуу.

Текшерүү үчүн суроолор:

1. Спирттик ачуу процесси кандай аппараттарда жүргүзүлөт?

2. Ачуу процессинин жалпы узактыгы канча?

3. Ачуу процессинин токтоп калышынын негизги себеби болуп эмне саналат?

Лабораториялык жумуш № 17

Тема: Түймөк тамыр бактерияларынын негизинде бактериалдык жер семирткичтерди өндүрүү технологиясы

Сабактын максаты: түймөк тамыр бактерияларынын негизинде бактериалдык жер семирткичтерди өндүрүүнүн технологиясын үйрөнүү.

Керектелүүчү материалдар жана каражаттар: чанак өсүмдүктөрүнүн фиксирленген тамыр системалары, фиксирленген түймөк тамыр, ботаникалык бычак, фуксиндин суудагы эритмеси, метилен көк, предметтик жабуучу айнек, пинцет, препаровалдык ийне, микроскоп, микробиологиялык иймек, Петри чөйчөкчөсү, чанактуу агары бар пробирка, бюкстар, сулеманын 0,1 %-түү эритмеси, 96%-түү спирт, стерилденген дистирленген суу, Дригалдын шпатели, кыйгач катырылган чанактуу агары бар пробирка.

Иштин теоретикалык негизделиши

Түймөк тамыр бактериялары чанактуу өсүмдүктөр менен биргеликте жашап, молекулалык азотту иштеп чыгарууга жөндөмдүү. Түймөк тамыр бактериялары *Rhizobium* тукумуна кирет. Түймөк бактерияларынын формасы жана чондуктары алардын өөрчүү стадияларына жараша өзгөрүп турат. Жаш культураларында, алар кыска кыймылдуу таякча сымал болуп, убакыттын өтүшү менен «боегон учурда бел курчоосунда боек албаган» деп аталган баскычка өтөт.

Анилин боегучтары менен боегон учурда цитоплазманын ачык түстөгү бөлүктөрү түссүз сызыктар менен айкалышат, анткени ал жерлерде боек затын кабыл албай турган майдын калдыктары болот.

Культура эскире баштаганда таякчалар бактероиддик баскычка өтөт, клеткалар бутактанып, коралл формасына окшоп калат, жана бактероиддик баскычта көбүнчө чанактуу өсүмдүктөрдүн гүлдөгөн жана бутон байлаган мезгилине дал келип, азотту жогорку интенсивдүүлүктө иштеп чыгара башташы менен мүнөздөлөт. Түймөк тамыр бактериялары чанактуу өсүмдүктөрдүн белгилүү группалары үчүн мүнөздүү. Мисалы, буурчактын бактериялары-вика, азык болуучу чанактуулар – чечевица, буурчак-люпина үчүн мүнөздүү ж.б.

Иштин жүрүшү:

Фиксирленген материалдан ар түрдүү чанактуу өсүмдүктөрдүн түймөк тамырларын көрүп, сүрөтүн тарткыла (буурчак, беде, люпин ж.б.).

Түймөк тамырдын түзүлүшүн окуп үйрөнүү үчүн курч ботаникалык бычак менен жука кесинди даярдайт. Кесиндини предметтик айнекке коюп, бир тамчы суу тамчылатып, фуксиндин эритмеси менен же метилен көк менен боеп, андан кийин микроскоптон көрөт (окуляр 15х, объектив 40Х). Препараттан түймөк тамырдын бактероиддик тканы жакшы көрүнөт жана андагы жайгашкан түймөк бактерияларынын тобу көрүнөт

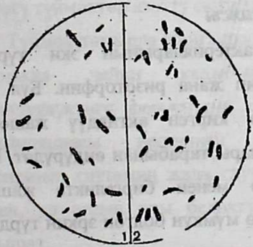
Түймөк бактерияларынын морфологиясын жакшыраак үйрөнүү үчүн фиксирленип, боелгон мазок даярдап, аны МИ-90 объективинде микроскоптон көрүүгө болот. Мазок даярдоо үчүн түймөктү кесип, предметтик айнекке андан бир тамчы ширесин сыгып алып, ага бир тамчы суу тамчылатат. Эгерде түймөктөрү кичине болсо,

препаровалдык ийне менен бөлүп алып, аны предметтик айнекке жакшылап эзет. Алынган мазокту кадимки ыкма менен фиксирлеп, боейт.

Препаратта ар түрдүү формадагы жана чондуктагы түймөк бактерияларын көрүүгө болот (13-сүрөт). Пайда болгон ар түрдүү формалары түймөктүн чондугунан жаңа чанак өсүмдүктөрүнүн өөрчүү фазаларынан көз каранды. Түймөк бактерияларды үйрөнүү үчүн люпиндин, беденин, буурчактын көлөмдүү түймөктөрүн колдонуу ыңгайлуу.

Түймөк бактериялардын таза культурасын бөлүп алуу

Түймөк бактерияларынын таза культураларын бөлүп алуу үчүн Петри чөйчөкчөсүнө чанактуулардан даярдалган агарга түймөктөн сыгылып алынган ширесин эгет. Ал үчүн стерилдик шартта даярдалган ысык агарды стерилденген үч Петринин чөйчөктөрүнө куюп, муздап катууланганча коюп коет. Түймөктөрдү топурактан бөлүп алып жакшылап жууп, 0,1 %-түү сулеманын суулуу эритмесине 5 мүнөт кармап турат, андан кийин стерилденген дистирленген суу менен жууп 1 мүнөт 96 %-түү спиртте кармап, кайрадан суу менен жакшылап жууйт. Бул ыкмада көбүнчө пенициллиндин чөйчөкчөсү, кичинекей бюкстар ж.б. колдонулат.



13-сүрөт. Түймөк тамыр бактериялары: 1- буурчак, 2- беде.

Түймөктү жогорудагы ыкма менен иштетип бүткөндөн кийин, стерилдүүлүктү сактоо менен Петри чөйчөкчөсүнө салып бир тамчы суу тамчылатып, пинцет менен эзет. Микробиологиялык

иймек менен ширеден бир тамчы алып даярдалган чөйрөгө эгип, андан кийин Петри чөйчөкчөсүн 25-28^{0}С температурада термостатка жайгаштырат. Өсүү ылдамдыгы боюнча тез өсүүчү түймөк бактерияларына беде, буурчак кирет, алардын колониялары өсүүнүн 4-5-күнүндө эле пайда болот, ал эми акырын өсүүчү түймөк бактерияларына люпина, соя кирет, алардын колониялары 9-10 күнү пайда болот.

Пайда бологон колониялар агыш түстө, илээшкек болуп чөйрөнүн үстүнкү катмарында өөрчүйт.

Топурактын микрофлорасы түздөн-түз анын түшүмдүүлүгүнө таасирин тийгизет. Топурактагы микроорганизмдер өсүү, өөрчүү процесстеринде топурактын структурасын жакшыртат, анда азык заттардын жыйналышын жана ар түрдүү органикалык минералдар менен байытылышын камсыздайт. Бул процесстерди жакшыртуу үчүн ар түрдүү бактериалдык жер семирткичтер колдонулат.

Азыркы учурда нитрагин, ризоторфин, азотобактерин, фосфобактерин, экстрасол ж.б. бактериалдык жер семирткичтери өндүрүлүүдө.

Түймөк бактериялардан препараттарды алуунун технологиясы

Азыркы мезгилде түймөк бактерияларынын эки түрдүү препараттары өндүрүлүүдө: нитрагин жана ризоторфин. Бул эки препарат тен *Rhizobium* уруусуна кирген активдүү жашоого жөндөмдүү болгон түймөк бактериялары тарабынан өндүрүлөт. Бул бактериялар чанактуу өсүмдүктөр менен биргеликте жашап, өсүмдүктөр аркылуу женил синирүүгө мүмкүн болгон эркин түрдөгү азотту атмосферага чыгарууга жөндөмдүү.

Rhizobium уруусундагы бактериялар - аэробдор. Булардын ичинен активдүү, аз активдүү жана активсиз формадагы культураларды бөлүшөт. Алардын активдүүлүгүнүн критерийи болуп, алардын чанак өсүмдүктөрү менен биргеликте атмосферага азотту чыгарышы жана аны өсүмдүктүн тамыры аркылуу азык катары колдонушу.

Атмосфералык азотту синтездөө, өсүмдүктөрдүн тамырларындагы түймөктөрдө гана жүрөт. Алар *Rhizobium* тукумундагы бактериялардын тамыр системаларына жайгашкан учурда гана жүрөт. Тамыр системасына бактериялар майда жаш тамырчалар аркылуу кирип көбөйөт. Бактериялар жайгашкан өсүмдүктүн тамырында түймөк тамырды пайда кылып, тез көбөйүшөт жана өсүмдүктүн клеткасынын цитоплазмасында жеке түрүндө же топ-топ болуп жайгашат. Бактериалдык клеткалар бир нече жолу узарып, түсүн өзгөртөт. Эгерде түймөк кызгылт же мала кызыл түстө болсо, анда легоглобин пигментининин бар экендигин тастыктайт. Легоглобин (леггемоглобин)- жаныбарлардын канындагы гемоглобиндин аналогу, бул учурда алар молекулярдык азотту синтездөөгө жөндөмдүү болот. Боелбогон (бош) же жашыл түстөгү түймөктөр азотту синтездебейт.

Түймөк тамырда жайгашкан бактериялар молекулярдык азотту аммиакка чейин калыбына келтирүүчү нитрогеназдык активдүүлүктөгү ферменттик системаны синтездейт. Аммиактын ассимиляциясы негизинен ферментативдик айлануулардын таасиринен глутамин жана глутамин кислотасынын пайда болуусу менен, ал андан ары белоктун биосинтезинин пайда болушуна катышат.

Өсүмдүктөр менен симбиоз түзүүдө - *Rhizobium* бактериясы азык заттар менен камсыздалат, ал эми өздөрү болсо өсүмдүктү азот менен камсыз кылат.

Буларды классификациялоодо ал жайгашкан өсүмдүктү эске алуу менен классификацияланат. Мисалы: *Rhizobium phaseoli* – буурчак үчүн, *Rhizobium lupini* – люпин үчүн, сараделла ж.б. Бактериалдык жер семирткичтерди өндүрүүнүн тапшырмасы болуп, жашоого жөндөмдүү клеткаларды максималдык топтоо жана алардын жашоого жөндөмдүүлүгүн бардык технологиялык процесстерде сактоо, мына ушулардын негизинде белгилүү убакытка чейин сактала турган жашоого жөндөмдүү болгон препараттардын даяр формаларын өндүрүү саналат.

Азыркы учурда нитрагиндин эки түрү чыгарылат: топурактуу жана кургак. Түймөк бактериялардын культурасы топурактуу субстратта биринчи жолу 1911-жылы Москвада бактериалдык-агрономиялык станцияда даярдалган. Азыркы күндө бул технология менен иштөө бир кыйла чектелген, анткени технология бир кыйла татаал жана көп баскычтарды талап кылат. Азыркы учурда кургак нитрагинди өндүрүү технологиясы көбүрөөк маанилүү болууда.

Кургак нитрагин – 1 г порошокто 9 млрд. кем болбогон жашоого жөндөмдүү бактерияларды кармаган ачык сары түстөгү порошок. 5-7% тен ашпаган нымдуулукту кармайт. Өндүрүштүн өндүрүмдүүлүгү белгилүү схемада жүргүзүлөт. Белгилей кетүүчү нерсе, бул кургатууга туруктуу болгон штаммдарды тандай билүү зарыл. Эгүүчү материалды өндүрүү үчүн бактериалдык түймөктүн баштапкы культурасын чанактуулардан даярдалган 2% агар жана 1% сахароза кармаган агар чөйрөсүндө өстүрөт. Андан ары культураны суюк азык чөйрөсү бар колбада 1-2 күн 28-30°С температурада, рН 6.5-7.5

өстүрөт. Өндүрүштүк өстүрүүнүн бардык этаптарында меласса, жүгөрү экстракты, минералдык туздардан аммонийдин сульфаты, магнийдин сульфаты, кальцийдин карбонаты, натрийдин хлориди жана эки негиздүү калийдин фосфаты камтылган чөйрөлөр болуусу керек. Негизги ферментация 2-3 күн жүрөт. Даяр культуралдык суюктукту сепарациялап, 70-80% -түү нымдуулуктагы паста түрүндөгү биомасса алынат.

Алынган пастаны тиомочевина жана меласса (1:20) кармаган коргоочу чөйрө менен аралаштырып, андан кийин сублимациялык жол менен кургатуучу аппаратка жөнөтөт. Өндүрүштө үйлөп кургатуучу аппарат колдонулат, бирок бул учурда 75% клетка өзүнүн жашоо жөндөмдүүлүгүн жоготот. Даяр болгон нитрагин препаратын 0.2 - 1 кг полиэтилен баштыкчаларына салып, 15°С температурада 6 айдан ашпаган убакытка сакталат. Нитрагинди иштетүүдө түшүмдүүлүк 15-25 % жогорулайт. Түймөк бактерияларынын препараттары ризоторфин түрүндө чыгарылат. Биринчи жолу түймөк бактерияларынын чым көн препараты 30-жылдары даярдалган, бирок өндүрүү технологиясы 1973-1977-жылдары түзүлгөн. Ризоторфинди даярдоо үчүн 100°С ашпаган температурада кургатып, андан кийин майдалайт. Стерилдөөнүн эффективдүү жолу болуп гамма нурлары саналат.

Лабораториялык жумушту аткаруунун ирээттүүлүгү

1. Түймөк бактерияларынын негизинде бактериалдык жер семирткичтерди өндүрүү технологиясы менен таанышуу.

2. Бактериалдык жер семирткичтерди өндүрүүдө колдонулган микроорганизмдердин негизги мүнөздөрүн үйрөнүү.

3. Нитрагин жана ризоторфин препараттарын өндүрүүнүн өзгөчөлүктөрүн салыштыруу.

Текшерүү үчүн суроолор:

1. Топуракты азот менен байытуучу бактериалдык жер семирткичтерди атагыла.
2. Азот иштеп чыгаруучу кандай микроорганизмдерди билесинер?
3. Түймөк бактериялардан алынган препараттарга мүнөздөмө бергиле?

Лабораториялык жумуш № 18

Тема: Металлдарды микробдук иштетүү

Сабактын максаты: микробиологиялык ыкмалардын жардамында энергияга туруктуу продукталардын пайда болуу мүмкүнчүлүктөрүн үйрөнүү.

Керектелүүчү материалдар жана каражаттар: тиондук бактериялардын споралары: *Thiobacillus ferrooxidans,* жана *Th. thiooxidans* темирдин кычкылы, ар түрдүү металлдардын жана элементардык күкүрттүн сульфиддери. Fe_2 $(SO_4)_3$, $Al_2(SO_4)_3$ катышуусунда, $FeSO_4$ жана тион бактериясы *Th. ferrooxidans*. Көптөгөн металлдардын эритмелери (Zn, Co, As, Mn и др.) гетеротрофтук бактерия *Aeromonas ka* берилет.

Иштин теоретикалык негизделиши

Металлдарды бактериалдык иштетүү - суулуу чөйрөдө, көп компоненттүү кошулмалардан, белгилүү химиялык элементтерди микроорганизмдердин жардамында бөлүп алуу. Бактериялардын жардамында кендерден, өндүрүштөрдөн чыккан таштандылардан ж.б. баалуу компоненттерди (мисалы, жез, уран, алтын ж.б) же

зыяндуу кошулмаларды (түстүү жана кара металлдардын кендеринен мышьякты) бөлүп алууга мүмкүндүк жаралат. Биринчи жолу АКШ да 1958-жылы жезди жана цинкты бөлүп алуу боюнча патент алынган.

Металлдарды бактериалдык иштетүүдө жогорку басымга жана температурага таандык болбогон бардык ыкмаларды колдонууга болот. Металлдарды бактериалдык иштетүүдө күкүрттүү минералдарды жана дат баскан темирди кычкылына чейин кычкылдандыруучу тион бактериялары кенири колдонулат: *Thiobacillus ferrooxidans* (темирди кычкылдандыруучу бактериялар) жана *Th. thiooxidans* (күкүрт кычкылдандыруучу бактериялар). Тион бактериялары хемоавтотрофтор б.а. элементардык күкүрттүн жана ар түрдүү металлдардын сульфиддери, темирдин кычкылдануу процесси алардын жашоо тиричилиги үчүн бирден бир энергиянын булагы болуп саналат. Бул энергия атмосферадан жана кендерди иштетүүдөн бөлүнүп чыккан көмүр кислотасын ажыратууга сарпталат. Алынган көмүр бактериялардын клеткалык ткандарын түзүүгө жумшалат. *Th. ferrooxidans* түз жана кыйыр жолдор менен сульфиддик минералдарды сульфаттарга чейин кычкылдандырат (микроорганизмдер күкүрттүү кычкыл темирди күкүрт кычкылга чейин кычкылдандырганда, сульфиддер күчтүү кычкылдандыргычтар жана эриткичтер болуп саналышат):

$$2FeSO + 0{,}5O_2 + H_2SO_4 \xrightarrow{\text{бактериялар}} Fe_2(SO_4)_3 + H_2O;$$

$$Fe_2(SO_4)_3 + MeS \rightarrow MeSO_4 + 2FeSO_4 + S^{\circ}.$$

Металлдарды бактериалдык иштетүүнүн негизги фактору-күкүрттүү кычкыл темирдин тион бактериясы (*Th. ferrooxidans*) менен тез регенерацияланышы, кээ бир учурларда кычкылдануу жана

калыбына келтирүү процесстерин ылдамдатат. Тион бактерияларынын өөрчүшү үчүн оптималдуу температура болуп 25—35°С, ал эми pH чөйрөсү 2- 4 чейин болот. Тион бактериялары халькопиритти 12 жолу, арсенопиритти жана сфалеритти 7 жолу, ковелинди жана борнитти 18 жолу кадимки химиялык ыкмаларга салыштырмалуу ээригичтүүлүгүн тездетет.

Чоң көлөмдүү өндүрүштөрдө металлдардын рудаларынан пайдалуу кен байлыктарды бөлүп алуу үчүн (жезди жана уранды) бактериалдык иштетүү колдонулат. Мисалы, жезди күкүрттүү кошулмаларынан бактериалдык иштетүү жолу менен бөлүп алуу экономикалык жактан ыңгайлуу. Бул $Fe_2(SO_4)_3$ түн суулу эритмесинде $Al_2(SO_4)_3$ түн, $FeSO_4$ түн жана тион бактериясынын *Th. ferrooxidans* катышуусунда ишке ашат. Эритмелер сордуруп алуучу жайдан шланг аркылуу берилет. Бактерияларды жана жездин күкүрт кычкылын, жездин сульфиди төмөндөгү схема боюнча кычкылдандырат:

$$2Fe_2(SO_4)_3 + 2CuS + 2H_2O + 3O_2 \rightarrow 2CuSO_4 + 4FeSO_4 + 2H_2SO_4.$$

Ар түрдүү өлкөлөрдө металлдарды микробдук иштетүүдө тиондук бактериялардын катышуусунда көпчүлүк металлдарды (Zn, Co, As, Mn ж.б.) бөлүп алуу үчүн изилдөөлөр жүргүзүлүп келет. Азыркы күндө пайдалуу кен байлыктарды иштетип бөлүп алуу үчүн бактериялардын башка түрлөрүн табуунун үстүндө иштер жүргүзүлүүдө. Мисалы, алтынды эритүү жана бөлүп алуу үчүн агын суулардан бөлүнүп алынган гетеротрофтук бактериялар *Aeromonas* *ты* колдонуу сунушталган.

Металлдарды бактериалдык иштетүү үчүн аппараттардын жөнөкөйлүгү, бактериялардын тез көбөйүү мүмкүнчүлүгү, айрыкча

иштетилген эритмелерге келип түшүшү, тирүү организмдердин кармалышы, пайдалуу, баалуу кен байлыктарды алууда экономикалык жактан эле бааны төмөндөтүүгө мүмкүнчүлүк түзбөстөн, сырьелук ресурстарды белгилүү деңгээлде аз өлчөмдөгү жана ар түрдүү таштандылардан, чандардан жана шлактардан байытылган абалда бөлүп алуу мүмкүнчүлүгүн түздү. Металлдарды бактериалдык иштетүүдө жетилген жана жер кыртышында жоголуп бараткан кен байлыктардан, тоодогу байытылган комплекстерден түздөн-түз перспективдүү түзүлүштөгү автоматташтырылган ишканаларды түзүү мүмкүнчүлүктөрүн ачат.

Лабораториялык жумушту аткаруунун ирээттүүлүгү:

1. Металлдардын биотехнологиясында колдонулуучу микроорганизмдер менен таанышуу.

2. Металлдарды бактериялдык иштетүүнү жүргүзүү шарттарын үйрөнүү.

3. Лекциялык жана лабораториялык материалдардын негизинде бактериалдык иштетүүгө болгон негизги металлдар жөнүндө таблицага түшүрүү.

Текшерүү үчүн суроолор:

1. Металлдардын биотехнологиясында кайсы микроорганизмдер колдонулат?
2. Кайсы металлдарды бактериалдык иштетүүгө болот?
3. Металлдарды бактериалдык иштетүүнүн кандай ыкмалары бар?

Лабораториялык жумуш № 19

Тема: Биогазды өндүрүү.

Сабактын максаты: биогазды өндүрүүнүн негизги процесстерин үйрөнүү.

Керектелүүчү материалдар жана каражаттар: Органикалык таштандылар, кык, дан өсүмдүктөрүнүн жана мелассанын спирттик ачуудан кийинки калдыгы, кызылча жому, фекалдык калдыктар, мал союлуучу жана балык цехтериндеги таштандылар (кан, май, ичеги карындар), чөптөр, үй тиричилик таштандылары, сүт заводундагы таштандылар -лактоза, ириген сүт, биодизелдик өндүрүштөрдөн чыккан таштандылар - биодизелдик өндүрүштөрдө рапстан өндүрүлгөн техникалык глицерин, суусундуктарды өндүрүүдөн калган таштандылар - мөмө жемиш жомдору, жүзүмдүн ширесин сыгып алгандан кийинки калдыгы, балырлар, крахмалды өндүрүүдөгү таштандылар – мезга, сироп, картошканы иштетүүдөн (чипстерди өндүрүүдө, тазалоодо, кабыктары, бузулган, чириген клубендери) чыккан таштандылар.

Иштин теоретикалык негизделиши

Биогаз-биомассадан метандык ачытуудан алынган газ. Биомассаны ажыратуу 3 түрдүү бактериялардын таасиринде жүргүзүлөт. Азыктануу чынжырында бактериялар өзүнөн мурда жашаган тирүү клеткалардын продукталары менен азыктанышат.

1-гидролиздик түрү, 2-кислота пайда кылуучулар, 3-метан пайда кылуучулар.

Биогазды өндүрүүдө метаногендик бактериялардын класстары гана катышпастан 3 түрү тен катышышат.

Биогаз–өсүмдүктөрдүн жана жаныбарлардын биореактордо, кычкылтексиз чөйрөдө, органикалык таштандылардын натыйжасында пайда болгон газдардын аралашмасын чагылдырат. Кайра иштетүү процессинде биомассада «биошлам»- деп аталган органикалык семирткич пайда болот, өзүнүн баалуулугу боюнча кадимки кыкка окшош. Биогазды канализациялык жана сууларды тазалоочу жайларда, мал чарбачылыгында атайын курулган тетиктерде алынат. Энергияны алуу үчүн температуралык режимди сактоо талап кылынат, анткени алынган энергиянын жарымы биореакторду ысытууга кетет.

Биогаздын курамы

55-75 % метандан, 25-45 % CO_2, көп эмес санда H_2 жана H_2S тен турат. Биогазды CO_2 ден тазалагандан кийин биометан алынат. Биометан жаратылыш газынын толук аналогу болуп саналат. Ал биогаздан келип чыгышы боюнча гана айырмаланат.

Биогаздын чыгышы колдонулган сырьедон жана кургак заттардын кармалышынан көз каранды. Кара малдын 1 тонна кыгынан 30-50 м^3 60 % метан камтыган биогаз алынат, ал эми ар түрдүү өсүмдүктөрдүн түрлөрүнөн 70 % метан камтыган 150-500 м^3 биогаз алынат. Биогаздын максималдык санда алынышы – 87 % метан камтыйт 1300 м^3, муну көбүнчө майлардан алууга болот. Биогаздын эсебинде кургак зат (КЗ же англисче TS) же кургак калдык (КК) деген түшүнүк колдонулат. Суу камтыган биомассадан биогаз алууга болбойт. 1 кг кургак заттан 300 литрден 500 литрге чейин биогаз алынат.

Биогаздын чыгышын (көлөмүн) эсептөө үчүн конкреттүү сырьену лабораториялык текшерүүдөн өткөрүү керек же сырьего таандык белгилерин карап, майлардын, белоктордун жана углеводдордун камтылышын аныктоо керек. Жогорудагы заттарды

аныктоодо оной ажыроочу (фруктоза, кант, сахароза, крахмал) жана кыйындык менен ажыроочу (Мисалы: целлюлоза, гемицеллюлоза, лигнин) заттардын проценттик катышын билүү зарыл.

Элементтердин камтылышын аныктагандан кийин ар бири үчүн газдын чыгышы (көлөмү % менен) эсептелет жана андан кийин суммасы чыгарылат. Мурда биогаз жөнүндө илим жок кезде биогазды кык менен ассоциациялап «жаныбарлардын бирдиги» катары түшүнүктү колдонушкан. Азыркы күндө биогазды бардык органикалык заттардан алууга боло тургандыгын билгенден кийин бул түшүнүк колдонулбай калды. Биогазды таштандылардан сырткары да атайын өстүрүлгөн энергетикалык культуралардан, мисалы силостук жүгөрүдөн жана сильфиядан алууга болот. Мында 1 тонна сырьедон газдын чыгышы 500 $м^3$ чейин жетет.

Экологиясы

Биогазды өндүрүү таштандылардан пайда болгон метандын атмосферага таралышына чек койду. Иштетилген таштандылар айыл чарбасында жер семирткич катары пайдаланууга берилет. Бул болсо синтетикалык жер семирткичтерди пайдаланууну азайтуу менен топтолгон суулардын аз санда иштетилишине көмөк берет. Метан парниктеги өсүмдүктөрдүн өсүшүнө көмүр кычкыл газына караганда 21 эсе күчтүү таасир этет жана атмосферада 12 жыл сакталат. Метанды биогазга айландыруу экологияны кыска мөөнөттө глобалдык деңгээлде чечүүнүн кыска жолу болуп саналат.

Өндүрүш

Азыркы күндө дүйнө жүзүндө биогазды алуунун 60 ка жакын түрлөрү колдонулат же иштелип чыгылат.

Кенири тараган ыкма- метантенкте же анаэробдук колонналарда анаэробдук ачытуу.

Биогазды өндүрүп алууда энергиянын бир бөлүгү процесстин жүрүшү үчүн сарпталат (15-20 % кышында). Жылуу климаттагы өлкөлөрдө метантанкты ысытууну талап кылбайт. Бактериялар биомассаны 25-70^0 С да метанга чейин ажырата алышат. Кээ бир сырьелордун түрлөрүн таза түрүндө ачытууда өзгөчө эки стадиялуу технология талап кылынат.

Мисалы канаттуулардын кыктары, спирттик ачууда кадимки биореакторлордо биогаз үчүн иштетилбейт. Мындай сырьелорду иштетүүдө гидролиз үчүн кошумча реактор керектелет. Мындай реактор чөйрөнүн кычкылдуулугун контролдоп турат жана бул учурда бактериялар кислоталардын же щелочтордун көбөйүп кетүүсүнөн коркунуч жаралбайт. Биогазды алууда таштандылардын дайыма үзгүлтүксүз реакторго түшүп турушу экономикалык жактан ыңгайлуу, мисалы фермаларда.

Таштанды газ-биогаздын бирден бир түрү. Бул газ муниципиалдык тиричилик таштандылардан алынат. Биогазды өндүрүш үчүн жылуулук катары да пайдаланышат: электроэнергияда, жылуулук же буулаңтуу менен иштетүүдө, же автомашиналарды жүргүзүүчү энергиянын булагы катары пайдаланышат.

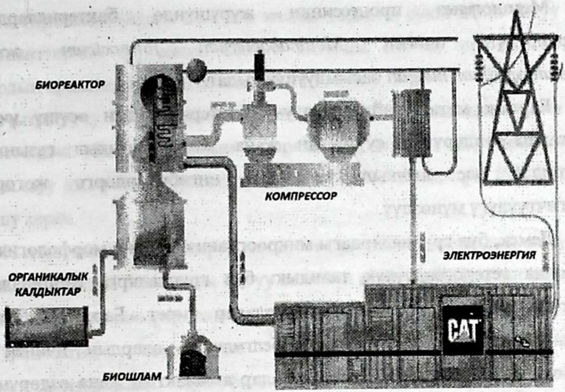
Индияда 1981-жылы 3,8 млн. кичик биогаздык курулуштар курулган. 2006-жылдын акырында Кытайда 18 млн. биогаздык курулуштар ишке киргизилген. Мындай биогаздык курулуштарды колдонуу 10,9 млн. тонна башка жылуулук берүүчү энергиянын сарпталышын экономдойт.

Өндүрүштүк өнүккөн мамлекеттердин арасынан биогазды өндүрүү жана колдонуу боюнча салыштырмалуу көрсөткүч боюнча алдынкы орунда Дания мамлекети турат, алар өндүргөн биогаз жалпы энергиянын 18 % тин түзөт. Абсолюттук көрсөткүчү боюнча

сандык жагынан орточо жана чон курулуштарды куруу боюнча эн алдынкы орунда Германия турат-800 мин биогаздык ишкана ишке киргизилген. Батыш Европада канаттуулардын фабрикасынын жарымынан көбү биогаз менен жылытылат. Volvo жана Scania кыймылдаткычтары биогаз менен жүрүүчү автобустарды иштеп чыгышкан. Мындай автобустар Швейцариянын бир катар Берн, Базель, Женева, Люцерн жана Лозанна. шаарларында кенири колдонулат.

Швейцариялык Газ Индустриясынын Ассоциациясынын билдирүүсү боюнча 2010-жылы Швейцариянын автотранспорттору толугу менен биогазда жүргүзүлөт.

Метандык ачуу, же биометаногенез процесси –эчак эле белгилүү болгон биомассанын энергияга айлануу процесси. Ал 1976-жылы Вольт тарабынан ачылып, саздуу жерлерде метан газынын бар экендигин аныктаган. Ушул процесстин натыйжасында алынган биогаздын составында 65 % метан, 30 % көмүр кычкыл газынан , 1 % күкүрт кычкыл жана көп эмес санда кычкылтектен, суутектен жана азот кычкылынан тургандыгы аныкталган. Биогаз жыты жок, көк түстөгү жалын болуп күйөт. Анын түтүнсүз күйүшү салыштырмалуу отун, көмүр жана башка нерселерди күйгүзүп жакканга караганда адамдарга көп ыңгайсыз абалды жаратпайт. 28 кубометр биогаздан алынган энергия 16,8 кубометр жаратылыш газынан алынган энергиянын эквиваленттине, 20,8 литр нефтиден же 18,4 литр дизелдик күйүүчү майдын энергетикалык эквивалентине барабар.



14-сүрөт. Биогазды алуу үчүн кичиустановка. Кичи-ТЭС (Е.М.Родиненики боюнча)

Биометаногенез 3 этапта жүргүзүлөт: органикалык кошулмалардын эригичтүүлүгү же сууда ажыроосу, ацидогенез же метаногенез.

Биогазды өндүрүүдө бактериялардын 3 группасы катышат. Биринчиси татаал органикалык кошулмаларды май, пропион жана сүт кислоталарына айландырат, экинчилери ушул органикалык кислоталарды уксус кислотасына, суутекке жана көмүр кычкыл газына айландырат, андан кийин метан пайда кылуучу бактериялар суутек иондорун синирип алуу менен көмүр кычкыл газын метанга чейин калыбына келтирет. Мурда уксус кычкыл жана метан пайда кылуучу бактериялар бир түрдөгү микроорганизмдер деп туура эмес эсептелинип келген болсо, азыр алар симбиоз пайда кыла тургандыгы аныкталды.

Метаногенез процессинин жүрүшүндө бактериялардын түрлөрүнүн ичинен *Metanobacterium formocicum жана Metanospirillum hungati* басымдуулук кылат.

Бардык метан пайда кылуучу бактериялардын өсүшү үчүн, метанды өндүрүүдө суутектин жана көмүр кычкыл газынын, ошондой эле кычкылтекке жана ингибиторлорго жогорку сезгичтүүлүгү мүнөздүү.

Демек, бул группалардагы микроорганизмдердин морфологиясы боюнча гетерогендүүлүк таандык: бул группаларга сарциналар, коктор, бациллалар жана спириллалар кирет. Бардыгы болуп метанобактериялардын 6 түрү белгилүү, алардын ичинен 4 хемолитоавтотрофторго таандык: алар аммиактын жана өздөрүнүн клеткалык заттарынын синтези үчүн суутектин эсебинен көмүр кычкыл газын калыбына келтиришет.

Кадимки шартта метаногенез процесси 20 күндөй убакытта жүрөт, ошондой эле селекциялык тандоонун негизинде *Metanobacterium cadomensis* штаммы алынган, бул процесс 8 күн аралыгында жүргүзүлгөн.

Өндүрүштүк шартта метандык ачуу ферментациялоочу материал жүктөлүүчү, каптал жактарында тешикчелери бар, суу өткөрбөөчү цилиндрдик цистерналарда («дайджестерде») жүргүзүлөт.

Дайджестердин үстүнкү жагында газды чогултуу үчүн колдонула турган болоттон жасалган цилиндрдик контейнер жайгашкан.

Ачып жаткан процесстин үстүнкү бөлүгүндө купол түрүндөгү аралашма контейнер ички процесстин жүрүшүнө, абанын киришине тоскоол болуп турат б.а бүт процесс анаэробдук шартта жүрүшү керек. Газ куполунда газды коюландыруу үчүн компрессор менен бириккен, биогаздын чыгышы үчүн түтүкчө жайгашкан.

Үй тиричилигиндеги же суюк калдыктардагы суюк жана катуу компоненттердин суу менен болгон катышы 1:1, ал эми кургак заттардын аралашмасынын катышы 8-11 % түзөт.

Ачытылуучу материалдарга көбүнчө уксус кычкыл жана метаногендик бактериялардын спораларын эгишет. Процесстин оптималдуу ажырашы үчүн нейтралдык чөйрөгө жакын pH (6,0-6,8) болушу керек.

pH тын төмөн көрсөткүчү метаногендик бактериялардын өсүү ылдамдыгын жана биогаздын чыгуу көлөмүн азайтат. Чөйрө ашыкча кычкылданып кетпөө үчүн акиташ колдонулат.

Процесстин жүрүшүндө максималдык температура микроорганизмдердин термофилдик же мезофилдик түрлөрүнө карата тандалат (30-40^{0}C же 50-60 C). Температураны кескин өзгөртүү ылайыктуу эмес.

Биогазды метандык ачытуу жолу менен өндүрүү - бул айрыкча айыл-чарбачылык жана энергетика жетишпеген алыскы райондордо энергетикалык проблемаларды чечүүнүн бирден бир жолу.

Лабораториялык жумушту аткаруунун ирээттүүлүгү:

1. Биогазды алуунун процесстерин үйрөнүү.
2. Лекциялык жана лабораториялык материалдардын негизинде биогаздык установкалардын схемалык түзүлүшүн баяндоо.
3. Биогаздык установкалардын жылуу жана суук мезгилдердеги өзгөчөлүктөрүн салыштырмалуу мүнөздөө.

Текшерүү үчүн суроолор:

1. Традициялык спирттик ачуунун жетишпеген жактарын атагыла.

2. Экологиялык таза энергиянын булагы катары- этанолду өндүрүү.
3. Биометаногенез деген эмне?
4. Биогазды алуунуң булактары кайсылар, атагыла?

Лабораториялык жумуш № 20

Тема: Нан жасоочу ачыткычтарды алуунун технологиясы

Сабактын максаты: Саман жана спирт азык чөйрөсүнөн нан жасоочу ачыткычтарды алуунун технологиясын үйрөнүү.

Керектелүүчү материалдар жана каражаттар: *Saccharomyces ачыткычынын культурасы, саман, фосфордун туздары,* азот, H_2SO_4, центрифуга, 10% - түү сүт кислотасы, фуразолидон, вакуум – чыпка же вакуум-пресс.

Иштин теоретикалык негизделиши

Өндүрүштө нан жасоочу ачыткычтардын атайын тандалган расасы *Sacch. cerevisiae* 14,21, Томская 7 ж.б. колдонулат. Культураларды тандоодо ачыткычтардын камырды ачытуу жөндөмдүүлүгүнө жараша тандалат б.а. алар күчтүү жана ферментативдик активдүүлүккө ээ болуу менен, терен ферментация процессинде, самандан даярдалган азык чөйрөсүндө жакшы өсүүгө жөндөмдүү болуп, жогорку көрсөткүчтөгү биомассаны берүүсү зарыл.

Ачыткычтардын клеткалары центрифугалоодо же чыпкалоодо культуралдык суюктуктан оңой бөлүнүүсү жана престелген түрү жакшы сакталышы зарыл. Ачыткычтардын активдүүлүгү минут сайын артып, бир канча убакыт өткөндөн кийин камырдын көлөмү

белгилүү стандарттагы чондуктагы көлөмгө көбөйөт. Жакшы ачыткычтар үчүн камырды көтөрүү активдүүлүгү 75 мүнөттөн ашпоо керек, зимаздык активдүүлүгү-30-40 мүнөт, ал эми мальтаздык активдүүлүгү 50-80 мүнөт.

Зимаздык жана мальтаздык активдүүлүгүн Елецкийдин ыкмасы боюнча аныкташат, мунун негизинде сахарозалык жана мальтозалык чөйрөдө белгилүү көлөмдөгү газды бөлүп алууга болот.

Нан жасоочу *Saccharomyces cerevisiae* ачыткычынын клеткасынын чондугу (3÷8) х (6÷14) мкм барабар. Формасы тегерек же овал түрүндө.

Нан жасоочу ачыткычтар ачытуу активдүүлүгүнө ээ, бирок кант биомассанын пайда болушу үчүн гана колдонулат, спирттик ачууда бардык мүмкүн болгон каражаттарды чектөө керек. Бул интенсивдүү аэрациялык чөйрөдө жетишилет, ошондой эле кантты төмөнкү концентрацияда (0,5-1,5 %) кармоо керек.

Чөйрөдө жогорку концентрацияда кантты кармоо Кребс циклинин катаболиттик репрессияга учурашына жана ачуу процессинде энергетикалык метаболизмдин өтүшүнө алып келет.

Мындан арылуу максатында процесстин туруктуу жүрүшү же процессти ылдамдатуу үчүн чөйрөгө канттын концентрациясын үзгүлтүксүз салып туруу керек. Чөйрөдө микрофлоралардын (жапайы ачыткычтардын нан жасоочу ачыткычтардын санынан көп болуп көбөйүп кетиши) өтө көп санда ашыкча көбөйүп кетишин көзөмөлдөө үчүн үзгүлтүктүү процесстин схемасы боюнча 10-20 саат жүргүзүлөт.

Топондон ачыткычтарды алуу

Нан жасоочу ачыткычтарды өстүрүү үчүн азык чөйрөлөрү фосфордун жана азоттун туздары кошулган топондон даярдалат,

даяр продукциянын курамында 6-7 % азот жана 3,6-4,4 % P_2O_5 кармалышы керек (кургак заттарга эсептегенде). Топонду 1:1-1:4 катышта сууда эритип, pH 5,0 ке чейин күкүрт кислотасы менен кычкылдандырып центрифугада тундурат. Центрифугалоо учурунда чөйрөдөн ачыткычтардын сапатын жана чөйрөнүн түсүн бузуучу ар түрдүү заттардан тазаланат.

Топондун мындай 20-45 % - түү эритмелерин ченегичи бар резервуарлардан агызып алат. Туздардын суудагы эритмелерин (көбүнчө 1:10 катышта) өзүнчө идиштерден агызып алышат.

Ачыткычтардын культураларынын көбөйүшүндө төмөндөгүдөй баскычтарга бөлүнөт: лабораториялык; таза культуралар; табигый таза культуралар; товардык ачыткычтар.

Лабораториялык шартта ачыткычтардын культураларынын көбөйүшү 3 этапта 10-12 % -түү угуттан жасалган чөйрөдө көлөмү 100, 1000, 8000 мл колбаларда ачыткычтарды өстүрүү менен 24 саатка созулган убакытта жүрөт. Өсүүнүн оптималдык температурасынын аралыктары 28-32° С, чөйрөнүн ракциясы pH 4,5-5,5.

Бактериялык жугуштуу илдеттерге кабылбоо үчүн баштапкы баскычтарында төмөнүрөөк чөйрөнүн реакциясы pH 4,3-4,6 колдонулат. Ошондой эле спирттик ачуу процесси да кошо жүргүзүлөт.

Таза культура баскычында (ТК) ачыткычтар эки аппаратта 12 % -түү угуттун жана аммонийдин фосфаты менен каныккан топондон даярдалган чөйрөдө көбөйүшөт. Биринчи аппараттын көлөмү 80-100 л, экинчи аппараттыкы 800-820 л. Чөйрө мезгил-мезгили менен аэрацияланат. Ферментациянын жүрүшү 10-20 саат. Кургак заттарга эсептегенде 2-4 кг ачыткыч өндүрүлүп алынат.

Кийинки табигый таза культуралардын баскычында (ТТК) үзгүлтүксүз шартта 7-8 %-түү топондон даярдалган чөйрөдө, эгилүүчү материал алынат, биринчи баскычында азыраак аэрациялоо болуп, процесстин акыркы баскычында бир көлөм суюктуктун бирдигине 1 мүнөт ичинде бир көлөм абанын бирдиги жиберилет. Акыркы баскычында ачыткычтарды сепарациялайт жана пресстейт. Алынган эгилүүчү материалды, техникалык таза культура деп аталган, 4^0C да сактайт жана товардык ачыткычтарды өндүрүүдө эгилүүчү материал катары колдонулат. Товардык ачыткычтардын сапатын жогорулатуу максатында, ашыкча чоочун бактериялардын кошо өсүшүн азайтууда табигый таза культураларды (ТТК) кислоталык иштетүүдөн өткөрүү зарыл. Бул үчүн престелген табигый таза культураларды сууда чөктүрүп (1:1), андан кийин 10 % -түү сүт кислотасын ачыткычтын массасынын 2 % ин кошуп аралаштырып 1 саат кармайт. Ушул эле максатта фуразолидонду (0,05 % ачыткычтын суспензиясынан) 1 саат кармап туруу менен колдонууга болот.

Товардык ачыткычтарды көбүнчө 3 этапта алышат. Алгач биринчи эгилүүчү материалды (задаточный ачыткычтар), андан кийин задаточтук ачыткычтарды жана булардан товардык ачыткычтар алынат. Биринчи задаточтук ачыткычтарды алуу чөйрөгө жайгаштырбай туруп алынат, процесстин узактыгы 6-7 саат. Экинчи этапта спирттик ачууну толук токтотууга аракет кылынат, ошондуктан ачыткычтарды канттын концентрациясын азайтуу менен, өтө интенсивдүү аэрациялык шартта өстүрүшөт. Көбүнчө бул этаптын узактыгы 10-12 саат. Товардык ачыткычтардын акыркы этабы 10-24 саатка созулат.

12 саатка созулган ачыткычтарды өстүрүүнүн акыркы этабын кенири карап көрөлү. Таза аппаратка топонду суюлтууга керектелген (1:17 – 1:30) сандагы 70-80 % - түү жылуу суу куюп, 10 % -түү топондун жана туздардын эритмесин кошуп, ачыткычтардын культуралары үчүн оптималдуу pH чөйрөсүн, температурасын тактап, андан кийин (1:1 көлөмдө) аэрациялоону баштайт. Мындай чөйрөгө эгилүүчү материалды салат. Биринчи сааттарда чөйрөгө салбайт, бирок 10 сааттан кийин үзгүлтүксүз агым менен 5; 6; 7,2; 8,2; 9,2; 10,2; 11,4; 12,8; 11; 9% чөйрөнүн жалпы санынан 1 саат убакыт ичинде жөнөтүлөт.

Ферментациялоо убагында аэрациялоо өзгөрүшү мүмкүн. Өстүрүүнүн биринчи жана акыркы сааттарында аэрация аз (1:1), ал эми ачыткычтардын интенсивдүү көбөйүүсүндө кычкылтектин көлөмү 1 мүнөттө чөйрөнүн 1 бирдик көлөмүнөн 1,5-2,0 ге жетет.

Мындай шартта ачыткычтардын культуралары бардык фазаларды басып өтөт жана ушуга ылайык технологиялык режим өзгөрөт. Баштапкы лаг-фаза убагында кычкылтекти керектөө азыраак болот, ал эми стационардык фазада культураларды толук жетилгенге чейин б.а. интенсивдүү көбөйгөнгө чейин кармоо керек.

Ферментация учурунда чөйрөнүн концентрациясы көп эмес санда жогорулайт (канттын өлчөмү боюнча 0,9 – 2,2 % чейин) жана титрленген кислота (0,3-0,8 мл чейин 1н. эритме 100 мл эритмеде). Мындай шартта пресстелген ачыткычтардын чыгышы колдонулган канттын санынан 150 % ти, кургак биомасса -37,5 % ти түзөт.

Ачыткычтардын биомассасынын максималдуу чыгышы үчүн азык чөйрөсүндө канттын концентрациясынын оптималдуу болушу гана шарттуу эмес, ошондой эле азоттун, фосфордун жана башка элементтердин, В группасындагы витаминдердин группасынын, биринчи кезекте биотиндин, кээде пантотенат кальцийдин болушу

зарыл. Эгерде топондо бул заттар жетишсиз болсо жүгөрүнүн экстрактын, угуттун өсүндүсүн, анын сыгылган үлгүсүн ж.б. биокошулмаларды кошот.

Ферментациялык процесстерди интенсификациялоонун ар түрдүү ыкмалары иштелип чыккан. Кээ бир заводдордо ферментация прцессин узартуу үчүн, ферментациянын акыркы стадияларында 6-7 саат аралыкта 15-30 % культуралдык суюктуктан алып, анын ордуна ошончо көлөмдө азык чөйрөсүн кошуп турат.

Процессти токтотуу үчүн алынган культуралдык суюктукту 1-2 саат резервуарда кармап, андан кийин бөлүп алат.

Культуралдык суюктукта ачыткычтардын клеткаларынын концентрациясын көбөйтүү үчүн кээ бир учурларда ферментаторго бөлүнүп алынган клеткаларды салышат.

Өндүрүштө нан жасоочу ачыткычтарды үзгүлтүксүз ферментациялоодо колдонууга аракет кылышат, бирок керексиз микрофлоралардын кошо көбөйүп кетүүсүнүн натыйжасында 4-6 күндөн ашык убакытка колдонууга мүмкүнчүлүк бербейт.

Ачыткычтардын биомассаларын культуралдык суюктуктан сепараторлорду колдонуу менен бөлүп алышат, алардын өндүрүмдүүлүгү 16-35 м/саат. Сепарациялоо негизинен 3 этапта жүрөт, чөйрөнүн ар түрдүү калдыктарынан, бактериялардын спораларынан тазалоо үчүн клетканын суспензиясын эки жолу жууш керек.

Ачыткычтардын концентраты 80-120 г/л кармаган кургак биомассадан алынат. Аны 8-10°С чейин муздатып, вакуум-чыпкалагычта же чыпкалоочу-прессте чыпкалап 70-75 % - түү нымдуулуктагы ачыткычтын пастасын алат. 75 % - түү (стандарттуу түрдө) нымдуулуктагы пасталарды муздаткандан кийин,

ачыткычтарды 50, 100, 500, 1000 г массада плиткалап сактоо үчүн оройт. Пресстелген ачыткычтарды 0-4°С 10 күнгө чейин сактайт. Нан жасоочу ачыткычтарды 30-40°С температурада 8 % - түү нымдуулукта кургатып, 6 айга чейин сактоого болот.

Спирттик чөйрөдө ачыткычтарды өстүрүү

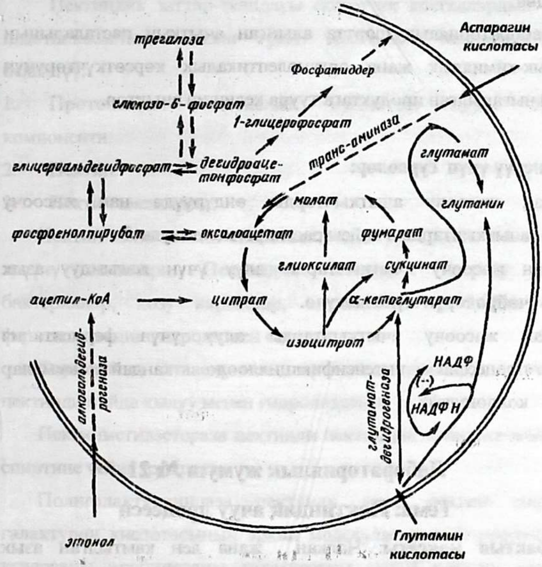
Ачыткычтардын культураларынын катары, анын ичинде *Saccharomyces* кычкылтек жетишпеген чөйрөдө жана углеводдордун катышуусунда канттардын ажыроосунан анаэробдук жол менен энергия алат (гликолиз), мындан этанол пайда болот. Чөйрөдө кычкылтектин пайда болушу менен ачыткычтардын клеткалары энергетикалык жактан көбүрөөк ыңгайлуу болгон аэробдук метаболизмге өтөт (Пастердик эффект) жана глюкозаны гана метаболизациялабастан чөйрөдө пайда болгон этанолду да метаболизациялайт. Ачыткычтар этанолду клеткаларында жайгашкан алкогольдегидрогеназа ферментинин жардамында ажыратат (15 – сүрөт).

Ачыткычтарды спирттик чөйрөдө өстүрүүгө кызыгуу, химиялык өндүрүштө этиленди гидратациялоого негизделгендиги менен чагылдырылат.

Синтетикалык этанол көмүртектин салыштырмалуу арзан булагы, анын ресурстары микробиологиялык керектөөлөргө карата келечекте каучукту өндүрүүгө жана башка сырьелордун түрлөрүнө өтүүдө кенейиши мүмкүн (негизги этанолду керектөөчүлөр).

Техникалык этанол зыяндуу заттарды азыраак камтыйт, ошондуктан ачыткычтардын биомассаларын азык болуучу заттарды алууда гана эмес, тамак аш белокторун да өндүрүү максатында колдонууга мүмкүндүк берет. Микробиологиялык синтез үчүн сырьелорду тандоодо, анын сапатынын стабилдүүлүгү чоң мааниге

ээ. Ушул максатта этанол топондон пайдалуулугу менен жыгачтардын гидролизаттарынан, өндүрүштүк ар түрдүү таштандылардан алынуу жолдору менен айырмаланат.



15 - сүрөт. Ачытқы клеткаларында этанолдун колдонулушунун химизми.

Лабораториялык жумушту аткаруунун ирээттүүлүгү:

1. Нан жасоочу ачыткычтарды алууда колдонулуучу ачыткычтардын расаларын үйрөнүү.

2. Нан жасоочу ачыткычтарды алуу үчүн лабораториялык шартта мелассадан азык чөйрөсүн даярдоо жана ушул азык чөйрөсүндө ачыткычтардын өсүү жана өнүгүү баскычтарын көзөмөлдөө.

3. Лабораториялык шартта алынган ачыткыч пасталарынын физикалык-химиялык жана органолептикалык көрсөткүчтөрүнүн заводдон чыгарылган продуктага туура келишин аныктоо.

Текшерүү үчүн суроолор:

1. Нан жасоочу ачыткычтарды өндүрүүдө нан жасоочу ачыткычтардын кайсы расалары колдонулат?
2. Нан жасоочу ачыткычтарды алуу үчүн жагымдуу азык чөйрөлөрүн мүнөздөгүлө.
3. Нан жасоочу ачыткычтарды алуу үчүн ферментация процессин интенсификациялоодо кандай ыкмалар колдонулат?

Лабораториялык жумуш № 21

Тема: Пектиндик ачуу процесси

Сабактын максаты: Чалкан жана лен камтылган азык чөйрөсүндө пектин ажыратуучу бактериялардын жардамында пектин затынын ажыроосунун технологиялык принциптерин үйрөнүү.

Керектелүүчү материалдар жана каражаттар: Чалкандын же лендун сабагы, кайчы, медициналык бычак, жип, чоң пробиркалар, предметтик жана жапкыч айнекчелер, пинцет, микробиологиялык илгич, фуксиндин же генцианвиолеттин суудагы эритмеси, иоддун

калий иоддогу эритмеси (гранулевдин реактиви), Возняковскийдин азык чөйрөсү бар чоң пробиркалар.

Иштин теоретикалык негизделиши

Пектиндик заттар-ткандагы скелеттик клеткалардын ортонку пластинкасынын негизин түзөт. Пектиндик заттардын 3 түрү белгилүү:

1. Протопектин- клеткалык кабыктын сууда эрибөөчү компоненти.
2. Пектин.
3. Пектин кислотасы.

Пектин жана пектин кислотасы галактурон кислотасынын суудa эрүүчү полимери. Пектиндик заттардын бузулуу процесси бактериялар, козу карындар, актиномицеттер пайда кылуучу ферментативдик гидролизден башталат.

Ферменттин таасиринен протопектиназалар, протопектин пектинди пайда кылуу менен гидролизденет.

Пектинметилэстераза пектинди пектин кислотасына жана метил спиртине чейин ажыратат.

Полигалактуронидаза пектинди жана пектин кислотасын галактурон кислотасынын эркин молекуласын ж.б. продукталарды ксилозаны, арабинозаны, галактозаны, метил спиртин жана уксус кислотасын пайда кылуу менен ажыратат. Пектин кислотасынын ажыроо тендемесин схематикалык түрдө төмөндөгүдөй туюнтууга болот:

$$C_{46}H_{68}O_{40}+10H_2O \rightarrow 4COH\ (CHOH)_4COOH+C_5H_{10}O_5+\ C_5H_{10}O_5\ +\ C_6H_{12}O_6\ +\ 2CH_3OH\ +2CH_3COOH$$

Анаэробдук шартта пайда болгон углеводдор май кычкыл тибинде ачыйт. Акыркы продукталардын курамы пектиндик заттардын бузулушуна алып баруучу микроорганизмдердин түрү менен аныкталат.

Пектиндик ачуу буланы техникалык культуралардан (лен, чалкан, джут, кенаф) өндүрүштө алууга негизделген. Пектиндик заттарды ачытууда *Clostridium* тукумуна кирген бактериялар бир топ активдүү мүнөзгө ээ. *Cl. pectinovorum* таяк сымал 4-8 мкм чоңдуктагы, бирден же чынжыр түрүндө кездешишет. Споралары тегерек формада болуп, терминалдык түрдө жайгашкан. Оптималдуу өсүү температурасы 30^0 С. Биринчи пектиндик заттардын ажыроосу башталат, бирок чөйрөдө органикалык кислоталардын жыйналышы менен микроорганизмдин активдүү иш аракети токтойт.

Андан ары пектиндик заттардын ажыроосун кислотага туруктуу микроб *Cl.felsineum* улантат. Бул микроб майда таяк сымал формада болуп (3-5 мкм), бирден же жупташкан абалда кездешет. Спорасы сүйрү, оптималдык өсүү температурасы 37°С. *Cl.felsineum* культурасы жип алуучу өсүмдүктөрдөн сапаттуу була алууда, анаэробдук шартта ачытуу процессин активдештирүү үчүн колдонулат. Табийгый шартта жип алуучу өсүмдүктөрдө ачытуу процессин жүргүзүүдө аэробдук микроорганизмдердин иш аракетинин натыйжасында ишке ашат: *Bacillus subtilis, Bacillus mesentericus* жана бубак козу карындары *Mucor, Cladosporium, Alternaria.* Пектин затын ажыратуу жай, 3-8 жумада ишке ашат.

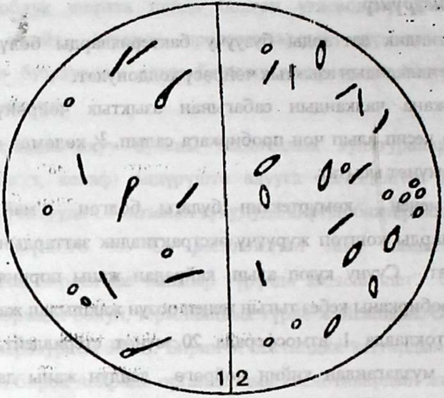
Иштин жүрүшү

Пектиндик заттарды бузуучу бактерияларды бөлүп алууда лендун же чалкандын азыктык чөйрөсү колдонулат.

Лендун жана чалкандын сабагынан азыктык чөйрөнү 5-7 см узундукта кесип алып чон пробиркага салып, ⅔ көлөмдө суу куюп, аны 10-15 мүнөт ысытат.

Ысытуу менен көмүртектин булагы болгон, май кычкыл бактерияларды коштоп жүрүүчү экстрактивдик заттардын булагын бөлүп алат. Сууну куюп алып, кайрадан жаны порциядагы суу кошуп, пробирканы кебез тыгын менен оозун жакшылап жаап, андан кийин автоклавда 1 атмосферада 20 мүнөт стерилдейт. Качан пробирка муздагандан кийин чөйрөгө лендун жаны даярдалган бөлүгүн салат. Прбирканы 35°C температурада термостатка жайгаштырат.

4-5 күн өткөндөн кийин пробиркада пектиндик ачуу процесси башталат. Бөлүнүп чыккан газ чөйрөнүн үстүнкү бөлүгүнө көтөрүлүп чыгат. Процесс 1,5-2 жума өткөндөн кийин бүтөт, бул учурда снопик пробирканын түбүнө түшөт. Пектиндик ачууда бактериялардын морфологиясын үйрөнүү үчүн препараттарды даярдоо керек. Снопикти пробиркадан алып, снопикти сыгып, андан чыккан суюктукту предметтик айнекке тамчылатып, ага иоддун калийдин иодундагы эритмесин тамчылатып, андан кийин микроскоптун ВИ-40 обөектинде карайт. Препараттан көк түскө боелгон вегетативдик жана споралары пайда болгон *Clostridium pectinovorum жана Clostridium felsineum* бактерияларынын клеткалары көрүнөт (16-сүрөт).



16-сүрөт. Пектин ажыратуучу бактериялар: 1 — Clostridium pectinovorum; 2 — Clostridium felsineum. Карбол фуксини.

Возняковскийдин ыкмасы боюнча Clostridium felsineumдун байытылган культурасын алуу.

Clostridium felsineum дун культурасын алуу үчүн Ю. М. Возняковский атайын азык чөйрөсүн колдонууну сунуштайт.

Чөйрөнүн курамы (г/л дистирленген суу):

Пектин затын кармаган картөшкөнүн маңызы	54,0
Жүгөрүнүн экстракты (аминокислоталардын булагы, фосфордук жана зольдук элементтер)	3,95
$(NH_4)_2SO_4$	2
$CaCO_3$	4
$FeCl_3$	0.375 мл 50-% эритме үчүн

Азыктык чөйрөнү чон пробиркага куюп, автоклавда 1 атмосферада 20 мүнөт стерилдейт. Чөйрөнү пектинди бузуучу бактериялардын суспензиясы менен жарааттандырат. Жарааттанган пробирканы 35—37^0 С термостатка коебуз. Пектиндик ачуу процесси 4-5 күндө аяктайт. Азыктык чөйрөдө картөшкөнүн маныздынын мацерациясы байкалат. *Clostridium felsineum* бактериясынын морфологиясын үйрөнүү үчүн пробиркага суюктуктан алып мазок даярдап, аны фуксин менен боеп МИ-90 объективде микроскоптон көрөт.

24-48 сааттан кийин ачыган препараттан *Clostridium felsineumдун* таякча сымал вегетативдик клеткалары байкалат. 4-5 күндөн кийин препаратта споралуу клеткалардын массасы байкалат.

Мындай жол менен алынган *Clostridium felsineum* культурасын лен иштетүүчү өндүрүштө буланы өндүрүүдө ачыткыч катары колдонулат.

Лабораториялык жумушту аткаруунун ирээттүүлүгү:

1. Пектин затынын биологиялык өзгөчөлүктөрүн үйрөнүү.
2. Негизги пектин ажыратуучу микроорганизмдер менен таанышуу.
3. Пектин ажыратуучу бактерияларды бөлүп алуу.

Текшерүү үчүн суроолор:

1. Пектин заты деген эмне?
2. Пектин затынын ачуу процесси кантип башталат?
3. Пектин затынын ажыроосунда кайсы ферменттер катышат?
4. Пектин затынын ачуу процесси кандай шартта жүрөт?
5. Пектин ажыратуучу бактериялар үчүн азык чөйрөсү катарында кандай субстраттар колдонулат?

Лабораториялык жумуш № 22

Тема: Клетчатканы ажыратуучу микроорганизмдер

Сабактын максаты: клетчатканын бузулуу процессин кароо, реакциянын жүрүү шарттары жана процесске катышуучу бактериялардын негизги штаммдары.

Керектелүүчү материалдар жана каражаттар: Петри чөйчөгү, 250 мл колба, чыпка кагазы, кайчы, медициналык бычак, спирт шамы, пинцет, предметтик айнекче, микробиологиялык иймек, ийилген айнек таякчасы, айнек сааты, дистирленген суусу бар пробирка, Гетчинсондун суюк чөйрөсү бар колба, Гетчинсондун агар чөйрөсү бар колба, Имщенецкийдин чөйрөсү, изилдөө үчүн топурак, кык, фуксиндин суулуу эритмеси жана генцианвиолет, микроскоп.

Иштин теоретикалык негизделиши

Клетчатка өсүмдүктөрдүн кургак массасынын 15 % - 60 % чейин түзөт. Өсүмдүктөрдүн өлгөн бөлүктөрү топуракка түшөт да ал жерде ажыроо процесси жүрө баштайт.

Клетчатканын ажыроосун бактериялар, козу карындар жана актиномицеттер жүргүзүшөт. Клетчаткалык массанын трансформацияланышы аэрациянын ар түрдүү шарттарында ар түрдүү температурада жана ар түрдүү pH чөйрөсүндө жүрөт. Клетчатканын ажыроо процесси ферментативдик гидролизден башталат. Целлюлаза ферментинин таасиринин натыйжасында клетчатка целлобиозага чейин, андан ары целлобиоза целлобиаза ферментинин таасири астында глюкозага өтөт. Бул процесстер схематикалык түрдө төмөндөгүдөй түзүлүшкө ээ:

$$(C_6H_{10}0_5)_n \rightarrow nC_2H_{22}O_{11} \rightarrow nC_6H_{12}O_6$$

Аэробдук шартта глюкоза микроорганизмдердин жардамында оксикислотага чейин кычкылданат, андан ары акыркы продукт-көмүр кычкыл газга жана сууга ажырайт. Бул процесс чоң энергияны бөлүп чыгаруу менен коштолот:

$$nC_6H_{12}O_6 \rightarrow R - CHOHCOOH \rightarrow CO_2 + H_2O_2 + x\ кДж$$

Анаэробдук шартта глюкоза май кислотасына чейин ажырайт:

$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow CH_3CH_2CH_2COOH + C0_2 + H_2 + x\ кДж$$

Акыркы ажыраган продуктанын составы клегчатканы ажыратуу процессине жана микроорганизмдердин түрүнө жараша ар түрдүү болушу мүмкүн. Аэробдук шартта клетчатканы көбүнчө *Myxobacteriales* жана *Cytophales* тобуна кирген бактериялар активдүү ажыратышат.

Cytophaga уруусундагы бактериялар узун таякча түрүндөгү учтуу, кээде бир аз ийилген (2-10 мкм) клеткалардан түзүлгөн. Эски культураларда көптөгөн шар түрүндөгү жана жип сымал инволюциялык формалар пайда болот. Колониялар сыймак, илээшкек, сары, кызгылт сары, бозгуч-күрөң түстө болот.Бул бактериялар топуракта көп санда кездешет.

Cellvibrio уруусундагы бактериялар майда, азыраак ийилген түзүлүштөгү кыймылдуу таякчалар (2-4 мкм). Колониялар күрөң-сары, жашыл, былжырлуу болуп, топуракта көп кездешишет.

Cellfalcicula уруусундагы бактериялар кыска тоголок таякчалар, учу курч бир аз ийилген (2,0x0,7 мкм). Жашылгыч-бозгуч түстөгү илээшкек колонияларды пайда кылат. Топурактын составынан бөлүп алышат.

Sorangium уруусундагы бактериялар жаш культурасында тогологураак учу ийилген таякча сымал клеткалардан түзүлгөн (2-5

мкм).Культура өсүп жетилгенден кийин микроцистен түзүлгөн мөмө байланган денече пайда болот.Таякча сымал клеткалар кыскарат да туура эмес түзүлүшкө ээ болгон калың кап менен капталат. Колониялар ачык кызгылт-сары, фиолет түстөргө ээ болушат. Саздуу, нымдуу топурактардан жана коендордун, аттардын кыктарынан бөлүнүп алынат.

Polyangium уруусундагы бактериялар булар түз таякча сымал тегерек учтуу клеткалар (3,5-8 мкм). Улам клеткалары картая баштаган сайын алмурут формасындагы мөмө денесине бириккен овалдуу микроцисттер пайда боло баштайт.

Мөмө денечеси сары, кызгылт - сары түстө болуп субстратка бириккен. Бул уруудагы бактерияларды көбүнчө дөңсөлөрдөгү топурактардан, коендордун кыктарынан жана ошондой эле нымдуу чириген дарактардын үстүнкү беттеринен бөлүп алууга болот.

Бактериялар менен кошо аэробдук шартта клетчатканы ажыратууда ак бубак козу карындар *Aspergilus, Penicilium, Fusarium, Cladosporium, Trichoderma,* кээ бир *Streptomyces* жана *Micromonospora* уруусундагы актиномицеттер да катышышат.

Анаэробдук шартта клетчатканын ажыроо процесси *Clostridium. Cl. Omeliansrii thermocellum* уруусундагы мезофилдик жана термофилдик бактериялар аркылуу ишке ашат. Булар узун таяк сымал клеткалар (4-8 мкм), ал эми картайган культуралардын клеткасынын узундугу 10-15 мкм, алар көбүнчө өз алдынча же жипчелерге бириккен абалда жайгашкан. Споралары шар формасында клетканын уч жагында калыптанган. Топурактын составынан жана суулардан бөлүнүп алынат. Өсүү температурасы 25-30° С. Клетчатканы термофилдик *Cl. Thermocellum* формадагы түрү өзгөчө активдүү ажыратат. Клеткасынын түзүлүшү бир аз ийилген

формада болуп спорасы клетканын уч жагында жайгашкан. Өсүү температурасы 55—60 °С.

Лабораториялык жумуш № 23

Тема: Суюк азык чөйрөсүндө базидиал козу карындарын өстүрүү

Сабактын максаты: Лигноцеллюлоза (ЛЦ) кармаган өсүмдүк калдыктарынан даярдалган суюк азык чөйрөсүндө базидиалдык козу карындарды өстүрүүнү жана биоконверсиядан пайда болгон продукталарды үйрөнүү.

Керектелүүчү материалдар жана каражаттар: Эрленмейер колбасы V=500 мл, пиво суслосу, агар-агар, өсүмдүк калдыгы, *Pleurotus ostreatus* жана *Fomes fomentarius* козу карындарынын споралары, микробиологиялык иймек, спирт куюлган шам идиш же газ күйгүзгүч, аралаштыруучу аппарат, шар тегирмени, лакмус кагазы.

Иштин теоретикалык негизделиши

Колдонулуп жаткан козу карындардын мицелийинин мүнөздүү өзгөчөлүгү-целлюлолитикалык жана лигнолитикалык ферменттерди синтездөөгө жөндөмдүү, алардын бул касиеттери ар кандай өсүмдүк калдыктарынын лигноцеллюлозалык комплекстеринин компоненттерин ажыратууга мүмкүндүк берет.

Дарактарды бузуучу козу карындар жогорку даражадагы өнүккөн ферментативдик аппаратка ээ, мисалы бир эле түрдөгү дарактарды бузуучу козу карындан (*Polyporus abietinus*) 19 фермент табылган. Дарактарды бузуучу козу карындардын негизги ферменти – целлюлаза саналат, ал дарактардын клетчаткаларын глюкозага чейин

ажыратып бузат, пектиназа, амилаза, ксиланаза-гидролитикалык ферменттери углеводдордун ажыралуусуна катышышат, лигнинди ажыратууда кычкылдандыруучу полифенолоксидаз ферментинин комплекси катышат.

Дарактарды бузуучу базидиалдык козу карындардын активдүүлүгү өтө жогору б.а. таза культуралар лабораториялык шартта, оптималдык чөйрөдө 180-310 күн аралыгында жыгач таарындыларын толугу менен ажыратып бүтөт.

Ошондуктан, акыркы убактарда базидиомицеттерди өстүрүү, анын ичинде Вешенка уруусундагы козу карын (*Pleurotus)* көптөгөн өлкөлөрдүн окумуштууларынын кызыкчылыгын арттырууда (1,2,3).

Көпчүлүк базидиомицеттер үчүн жаратылыш субстраттары болуп лигноцеллюлоза кармаган чириген дарактардын, ар түрдүү айыл чарба жана өндүрүш калдыктары саналат (1).

Иштин жүрүшү:

Изилдөөнүн объекти катары ар түрдүү өсүмдүк калдыктарынан бөлүнүп алынган базидиомицеттер - *Pleurotus ostreatus* жана *Fomes fomentarius козу* карындары колдонулат.

Лабораториялык шартта сусло-агар чөйрөсүндө өскөн козу карынды 3% пиво суслосун жана 1% лигноцеллюлозалык субстрат кармаган чөйрөгө 0,1-0,3 см өлчөмдө майдаланган өсүмдүк калдыктарын кошуп стерилденген шартта өстүрүлөт.

Культивирлөөнү 28-30^0 С температурада Эрленмейердин колбасында 200 мл азык чөйрөсүн куюп, pH 6,5 250 айлануу мүнөттөгү кыймылдаткычта 3-18 күнгө чейинки убакыт ичинде өстүрүлөт.

Лабораториялык жумушту аткаруунун ирээттүүлүгү:

1.Сусло-агардан даярдалган тыгыз чөйрөдө козу карындардын спораларын өстүрүү.

2. Базидиал козу карындарын өсүмдүк калдыктарында өстүрүү, аралаштыруучу аппаратка жайгаштыруу.

3. Отчеттун жыйынтыгы.

Текшерүү үчүн суроолор:

1. Кандай пайдалуу жана зыяндуу базидиал козу карындарын силер билесиңер?
2. Козу карындардын экологиялык группаларын санагыла?
3. Биологиялык активдүү заттардын продуценттери болгон базидиомицеттерге мүнөздөмө бергиле?
4. Базидиал козу карындары пайда кылган кандай метаболиттерди силер билесиңер?
5. Базидиалдык козу карындарды өстүрүүнүн усулдарын санагыла?
6. Базидиалдык козу карындардын өсүшү жана көбөйүшү кандай жүрөт?
7. Базидиомицеттердин айыл чарбасындагы маанисин белгилегиле?

Лабораториялык жумуш № 24

Тема: Культуралдык суюктукту фракциялоо, микробдук полисахариддерди бөлүп алуу

Сабактын максаты: лигноцеллюлоза (ЛЦ) кармаган өсүмдүк калдыктарында базидиал козу карындарын терең ферментация

шартында өстүрүү менен углеводдордун фракциялык составын үйрөнүү.

Керектелүүчү материалдар жана каражаттар: Эрленмейер колбасы V=500 мл, Бюхнер бөлгүчү, айнек бөлгүчү, чыпка кагазы, шпатель, айнек таякчасы, кварц куму, майдалагыч, химиялык стакандар 150-200 мл, центрифуга, центрифугалык тараза, дистирленген суу, өстүрүлгөн культура.

Иштин теориялык негизделиши

Культуралдык суюуктук (КС) – эки фазалуу системаны чагылдырат: катуу фазасы биомасса, ал эми суюк фазасы эриген азык чөйрөсүнүн калдыктары жана биосинтезден пайда болгон экстрацеллюлярдык продукталар болуп саналат.

Катуу жана суюк фазалар –татаал көп компоненттүү системалар. Кайсыдыр бир компонентти таза түрүндө бөлүп алуу үчүн химиялык технологиянын ар түрдүү усулдарын колдонуу талап кылынат.

2-таблицада ферментациядан кийин культуралдык суюуктуктан бөлүнүп алынган продукталардын концентрациясы жана продукталардын чыгышы % менен көрсөтүлгөн.

Ферментациядан пайда болгон продукталарды культуралдык суюуктуктан бөлүп алуу бир кыйла татаал жумуш, мисалы пенициллинди синтездеп бөлүп алууда анын концентрациясы чөйрөдө 3% тен ашпайт, ал эми азык чөйрөсүн даярдоодо татаал химиялык түзүлүштөгү жүгөрү экстрактын пайдаланат (223 %), лактоза (5%), глюкоза (1,5%), ар түрдүү туздар (1% ке чейин), көбүктөндүргүчтөр, бор, пенициллинди алып жүрүүчүлөр.

2- таблицада ферментациядан кийин культуралдык суюуктуктан бөлүнүп алынган продукталардын концентрациясы жана продукталардын чыгышы % менен көрсөтүлгөн.

Продукт	Концентрация, г/л	Концентрация, г/л
Нан жасоочу ачыткычтар (кургак салмакта)	20-30	45-50
Этанол	80-120	45-48
Лимон кислотасы	80-100	75-80
Лизин	50-80	30-50
Глутамин кислотасы	100	40
Ксантин	25	80
Пенициллин	До 30	8
Рибофлавин	10	10
Цианкобаламин	0,05	1

Аэробдук процессте культуралдык суюуктуктагы биомассанын саны 20-30 г/л, ал эми анаэробдук процессте 1-5 г/л түзөт.

Культуралдык суюктуктан биомассаны бөлүп алуунун усулдары төмөнкүлөр:

Колдонуу	
Центробеждик талаада культуралдык суюуктуктан клеткаларды бөлүп алууда сепарациялоо жана центрифугалоо	Нан жасоочу жана азык болуучу ачыткычтарды, бактериалдык биомассаларды алуу
Чыпкалоо: биомассаны фильтраттын	

үстүндө кармоо Флокулянттар же полиэлектролиттер менен чөктүрүү: культуралдык суюуктукка атайын химиялык заттарды кошуу менен клеткалык биомассаны стимулдаштыруу	Микроскоптук козу карындардын жана актиномицеттердин мицелийинин массасы Ачыткычтардын, бактериялардын биомассалары

Кээ бир учурларда биомассаны чөктүрүү үчүн чыпкалоодон мурун ар түрдүү флокулянттарды кошот. Фазаларга бөлүү жана түссүздөндүрүү үчүн органикалык поликатиониттик флокулянттар, мисалы ар түрдүү молекулалык массадагы «метацит» деген ат менен чыгарылган полигексаметиленгуанидин колдонулат.

Бул зат антисептикалык касиетке ээ. Жемиштердин ширелерин түссүздөндүрүүдө метациттин жогорку концентрациясы 100 мг/л, таза сууну кайрадан иштетүүдө катиондук полиакриламид колдонулат.

Катиондук флокулянт N-диметиламинметилполиакриламид сууну түссүздөндүрүүчү зат катары pH 3-8 чейин 6-25 мг/л өлчөмүндө таасир этет. Биологиялык тазалоодо ингибирлөө 5 мг/л өлчөмүндө ишке ашат.

Эгерде максаттуу продукта болуп биомасса эсептелсе, мисалы, өндүрүштө азык болуучу ачыткычтар, анда клеткалардын суспензияларын суусуздандыруу жүргүзүлөт.

Иштин жүрүшү:

Культура өсүп бүткөндөн кийин (№20 иш) биомассаны культуралдык суюуктуктан вакуум астында Бюхнердин бөлгүчү аркылуу бөлүп алат. Мицелийди жакшылап дистирленген сууда

жууп, кварц кумун кошуп мицелийдин жипчелери толук бузулганга чейин майдалап гомогенизациялайт. Гомогенатты 8000 айлануу мүнөтүнө 15 мүнөт центрифугада айлантат. Андан кийин гомогенаттан чөкмө үстүндөгү суюуктукту бөлүп алып, алардан полисахариддердин фракцияларын алат: суудa эрүүчү полисахарид (СЭПС), пектин заты (ПЗ) жана гемицеллюлоза (ГМЦ). Алынган полисахариддердин составын аныктоо үчүн толук кислоталык гидролизге коюп, хроматографиялык анализ жүргүзүлөт.

Лабораториялык жумушту аткаруунун ирээттүүлүгү:

1. Биомассадан культуралдык суюуктукту бөлүп алуу.
2. Мицелийди жууп-тазалоо жана гомогенизациялоо.
3. Полисахариддердин фракцияларын алуу.
4. Отчеттун жыйынтыгы.

Текшерүү үчүн суроолор:

1. Биотехнология процесстеринде продуктаны бөлүп алууда жана тазалоодо кеңири колдонулуучу ыкмаларды санагыла?
2. Культуралдык суюктук эмнени чагылдырат?
3. Культуралдык суюктукту гомогенаттан кандай ыкмалардын жардамында бөлүп алат?
4. Базидиал козу карындары пайда кылган кандай метаболиттерди силер билесиңер?
5. Бөлүнүп алынган полисахариддерди мүнөздөгүлө: суудa эрүүчү полисахарид (СЭПС), пектин заты (ПЗ), гемицеллюлоза (ГМЦ).
6. Биомассадан культуралдык суюктукту бөлүп алууда кайсы аппараттар колдонулат?
7. Чөкмө үстүндөгү суюктук деген эмне?
8. Эл керектөөсүндө жана медицинада полисахариддердин орду?

Лабораториялык жумуш № 25

Тема: Культуралдык суюктуктан продукталарды бөлүп алуу

Сабактын максаты: Культуралдык суюуктуктан продукталарды бөлүп алуунун ыкмаларын үйрөнүү.

Керектелүүчү материалдар жана каражаттар: Эрленмейер колбасы 500 мл, Бюхнер бөлгүчү, айнек бөлгүч, чыпка кагазы, шпатель, айнек таякчасы, этил спирти, ацетон, бутанол, майдалагыч, химиялык стакандар V=150-200 мл, центрифуга, центрифугалык тараза, дистирленген суу, культуралдык суюуктук.

Иштин теоретикалык негизделиши

Культуралдык суюуктуктан максаттуу продуктаны бөлүп алуу продуценттин биомассасынан бөлүп алууга негизделет. Андан ары фильтрлөөнүн мүнөзүнө жана продуктанын касиетине жараша бөлүп алуунун ыкмалары, бөлүнүп алынган заттарды концентрациялоо жана тазалоо ыкмалары тандалып алынат.

Кээ бир учурда бул процесстерди жүргүзүүдө кеткен чыгым, азык чөйрөлөрүн даярдоодогу жана ферментациялоодогу кеткен чыгымдан ашып түшүшү мүмкүн. Мисалы өндүрүштө ферменттерди бөлүп алуунун жана тазалоонун баасы жалпы кеткен чыгымдын 70% тин түзөт, этанолду өндүрүүдө 15-20 % тен ашпайт, ал эми органикалык кислоталарды өндүрүүдө 30-40 % ти түзөт.

Биотехнологиялык процесстерде заттарды бөлүп алууда жана тазалоодо кеңири колдонулуучу ыкмалар төмөндө келтирилген:

Дистилляция: продуктанын бууланып конденсация абалына айлануусу жана системадан продуктанын конденсацияланып түшүшү.

Суусуздандыруу: бууландыруу, кургатуу менен бууландыруу, кургатуу.

Лиофилдөө: эритмени тондуруу же клетканы суспензиялоо жана андан ары абасыз чөйрөдө сублимациялоо.

Тондуруу: суулуу чөйрөдөн кристаллдык абалга-музга өткөрүү, андан ары механикалык ыкма менен бөлүнүп алынат (чыпкалоо, центрифугалоо). Кээ бир эрибөөчү туздарды, химиялык чөктүргүч реагенттерди эквимолярдык өлчөмдө кошуу менен чөктүрүлөт.

Кристалдаштыруу: культуралдык суюктукту бууландырып алдын ала иштетүүдөн кийин муздатып, кристаллдаштырат.

Чөктүрүү: заттардын эригичтүүлүгүнүн өзгөрүшү (мисалы, белоктор) электролиттерди, органикалык эриткичтерди, атайын флокулянттарды ж.б. кошуу менен.

Сорбциялоо: ион алмашуу хроматографиясын, афиндик хроматографиясын ж.б. колдонуу.

Экстракциялоо: эритмеге экстрагентти кошуу (эриткичти) б.а. продуктага эриткичтин сиңирилиши. Андан кийин эмульсияны ажыратып, максаттуу продуктаны бөлүп алат.

Ультрачыпкалоо: белгилүү чоңдуктагы өлчөмдөгү мембраналык чыпкада эритмени иштетүү (б.а. заттардын молекулаларынын чоңдуктарына жараша фракциялоо). Эриткичтер (этанол, ацетон, бутанол).

Иштин жүрүшү:

Биомассадан бөлүп алганга караганда культуралдык суюуктуктан продуктаны бөлүп алуу жөнөкөйүрөөк. Ошондуктан керектүү заттарды ферментация учурунда бөлүп алууга умтулуу зарыл. Мисалы, *Saccharomyces cerevisiae* ачыткычы клеткадан инвертаза ферментин начар бөлүп чыгарат. *Kluyveromyces*

marxianus 25 % ке чейин синтезделген инвертазаны экскрециялайт жана инвертазаны бөлүп алуунун экинчи учурунда көп кыйынчылыкка алып келбейт. Кээ бир учурда экскрецияны активдештирүү керек болот (мисалы ферментти, генетикалык ыкмалар менен).

Заттарды бөлүп алуудан жана концентрациялоодон чыгым белгилүү деңгээлде көз каранды болот.

Продуктаны термикалык суусуздандыруу механикалык суусуздандырууга караганда кымбатка турарын эстен чыгарбоо керек. Мисалы, эгерде эритмеде 1 % кургак зат кармалса, анда суусуздандырууну кургатуу жолу менен жүргүзүү керек, бул болсо 30 % түү кургак зат кармаган заттарды андан ары центрифугалоо менен суусуздандырганга караганда 20 эсе кымбат турат.

Продукталарды концентирлөөнүн перспективдүү ыкмасы болуп - мембраналык бөлүү саналат. Мисалы, культуралдык суюктукту концентирлэөдө 4,5-12 % ке чейин кургак заттарды мембрана аркылуу бөлүп алуу, ушундай эле көлөмдөгү затты бууландыруу ыкмасы аркылуу концентирлөөгө караганда 3 эсеге арзан турат. Ал эми шартка жараша кээ бир учурларда бууландыруучу установкаларда суусуздандыруу, жөнөкөй кургаткычтарда суусуздандырууга караганда пайдалуураак. Конвективдүү кургаткычтарда 1 кг суудан арылтуу үчүн 1,3-2,0 кг буу керектелет, ал эми абасыз-бууландыруучу установкаларда болгону-0,3 кг керектелет.

Биологиялык объектер үчүн маанилүү суусуздандыруу ыкмасы болуп лиофилизациялык жана сублимациялык кургатуу саналат. Бирок, бул ыкмалар өтө кымбат. Мисалы, үйлөп кургатуу менен кургатууда продуктадан 1 кг суудан арылтууда 2500 кДж, ал эми

лиофилизациялык ыкма менен кургатууда 6500 кДж энергия сарпталат.

Органикалык кислоталарды жана аминокислоталарды өндүрүүдө культуралдык суюктукту концентрациялоо менен кристалдаштырып продуктаны бөлүп алууга болот, бирок бул үчүн азык чөйрөсүндө көптөгөн боелгон жана балласттык заттар камтылбашы керек.

Мисал катарында итакон кислотасын углеводдуу чөйрөдөн ферментациядан кийин бөлүп алууну айтсак болот.

Бул үчүн культуралдык суюктукту активдешкен көмүр менен түссүздөндүрүп андан кийин чыпкалайт. Мындан кийин абасыз бууланткычта 50-60^{0}С ысыкта көлөмү 10 эсе азайганча буулaндырат. Эритме 13-15^{0}С чейин муздагандан кийин кристалдаштырып 75-80 %-түү техникалык продукт - итакон кислотасы алынат. Алынган техникалык продуктаны кайрадан кристалдаштырып, экинчи жолу активдешкен көмүр менен түссүздөндүргөндө итакон кислотасынын кармалышы 99 % ке чейин жетет. Калган эритмени кристаллдардан бөлүп алгандан кийин буулaндырып кайрадан кристалдаштырып органикалык эриткичтер же иониттердин жардамы менен итакон кислотасын алат.

Лабораториялык жумушту аткаруунун ирээттүүлүгү:

1. Культуралдык суюктукту биомассадан бөлүп алуу жана концентрациялоо.

2.Органикалык эриткичтер менен (этанол, бутанол, ацетон). чөктүрүп продукта алуу.

3.Алынган продуктаны кайрадан кристалдаштыруу.

4.Продуктаны суусуздандыруу.

Текшерүү үчүн суроолор:

1. Максаттуу продуктаны бөлүп алуу эмнеге негизделет?
2. Культуралдык суюктукту түссүздөндүрүү кандай максатта жүргүзүлөт?
3. Биологиялык объекттер үчүн маанилүү суусуздандыруу усулу болуп эмнелер саналат?
4. Термикалык жана механикалык суусуздандыруунун экономикалык принциптери эмнеге негизделген?
5. Продукталарды концентирлөөнүн перспективдүү ыкмасы болуп эмне аталат?
6. Биотехнологиялык процесстерде заттарды бөлүп алууда жана тазалоодо кеңири колдонулуучу ыкмалар кайсылар - санагыла?
7. Азык чөйрөсүндөгү боелгон жана балластык заттардын мааниси кандай?
8. Балластык зат деген эмне?
9. Биотехнологияда продукталарды бөлүп алууда биотехнологиялык принциптердин зарылчылыгы барбы жана эмнеде?

МАСЕЛЕЛЕРДИ ЧЫГАРУУ

Биотехнологиялык процесстер үчүн мүнөздүү болуп, алардын көпчүлүгү атмосфералык шартта, жагымдуу таасирлердин натыйжасында, жогорку коэффициентте жүргөндүгү саналат. Микроорганизмдерди колдонуу эмгек чыгымдарын, өндүрүштүк каражаттарды жана башка ар түрдүү продуктаралды сарамжалдуу пайдаланууга алып келет. Микробиологиялык синтездин продуктивдүүлүгү өндүрүштөрдүн географиялык жайгашуу абалынан, топурактан жана климаттык шарттардан көз каранды болбойт. Бардык процесстер төмөнкү энергия жумшоо менен атмосфералык басымда жана бөлмө температурасында жүргүзүлөт (белгилүү деңгээлде өндүрүштү арзандатып жана жөнөкөйлөштүрөт).

Бактериялар бир канча он күндүн ичинде бизге керек болгон миңдеген тонна продуктаралды өндүрүүгө жөндөмдүү.

Биотехнологиялык процесстердин мисалы болуп нефтинин парафиндик фракциясынан белок-витаминдик концентраттарды өндүрүү; метандан азык белогун; углеводороддорду ачытуу менен спиртти жана кислоталарды алуу; витаминдик өндүрүш; ферменттер жана ферментативдик катализаторлор; күкүрттүү күкүрттүн (IV) кычкылына жана күкүрт кислотасына чейин кычкылданышынын бактериологиялык ыкмасы; күкүрт кармоочу продуктаралды элементардык күкүрткө чейин бактериалдык калыбына келтириши; металлдарды микробдук иштетүү; микроорганизмдердин жардамында нефтини иштетүү ж.б. саналат.

Жезди биотехнологиялык жол менен алуу башка традициялык ыкмалардан 3 эсе арзан турат.

Өндүрүштөгү биотехнологиялык,биохимиялык көрсөткүчтөр технологиялык процесстер үчүн таандык болгон экономикалык, техникалык ж.б. закон ченемдүүлүктөргө негизделген.

Мисалдарды чыгаруунун үлгүсү

Тапшырма 1. Ферментти биосинтездөөчү цехтин жылдык көлөмү 11 000 млн шарттуу бирдикти түзөт. 1 млн шарттуу бирдикти түзгөн α-аспарагиназа төмөндөгүдөй: аммонийдин сульфаты - 2,2 кг, ортофосфор кислотасы - 0,035, 100%- түү натрийдин гидроксиди - 3,7, натрийдин ацетаты - 12,1 жана жүгөрүнүн экстракты - 53,4 кг. Бир жылда биосинтез үчүн жумшалган сырьелордун бардык түрлөрүнүн салмагын аныктоо (килограмм менен) керек.

Чыгаруу. Бир жылда аммонийдин сульфаты 11000X2,2=24200 чыгымды түзөт, ортофосфор кислотасы 11000X0,035=3850, натрийдин гидроксиди 11000X3,7=40700, натрийдин ацетаты 11000 · 12,1=133100 жана жүгөрүнүн экстрактынан 11 000 млн шарттуу бирдикти түзгөн ферменттин биосинтези үчүн 11000X53,4=587400 чыгым керектелет.

Тапшырма 2. Белок-витаминдик концентратты чыгаруучу заводдун проектик жөндөмдүүлүгү жылына 40 миң тонна. Эгерде жылына 38 миң тонна салмактагы суюк парафинди алса, ал эми 1 тонна салмактагы белокту алыш үчүн 1,4 тонна парафин керектелет, заводдун жетишбестигин аныктагыла (% менен).

Чыгаруу. G=40000·1,4= =56000 проектик кубаттуулуктагы бир жыл ичинде завод талап кылган парафиндин салмагын аныктайбыз, анда заводдогу жетишбеген процент төмөнкүчө болот:

$$W_{жетишсиз} = \frac{38000.100}{56000} = 100 - 67,86 = 32,14$$

Тапшырма 3. Эгерде көлөмү 100 м^3 болгон ферментатордо 1 тонна белокту алуу чүн 10 кг ачыткычтын клеткасы сарпталса, 56 мин тонна белок-витаминдик концентратты алуу үчүн канча салмактагы ачыткыч клеткалары керектелет. Эгерде буурчактан 1 тонна белок алуу үчүн 360 га керектелсе, ушундай салмактагы белокту алуу үчүн буурчак өскөн аянттын чоңдугун аныктагыла?

Чыгаруу. 56 миң. т БВК ты синтездөө үчүн керек болгон ачыткыч клеткаларынын салмагын (тоннада) аныктайбыз: G=56000X10=560. Эгүүчү аянттын чоңдугу 56000X360=20160000 барабар болот.

Тапшырма 4. Бир тонна ачыткыч белокту кармашы боюнча салмагы 7,8 т болгон эгүүчү буудайды алмаштырат жана малдарга башка азык заттарга кошуп бергенде 1,5 т. салмак кошот. Гидролиздик – ачыткыч өндүрүүчү заводдун бир айдагы, эгерде анын өндүрүмдүүлүгү 105 мин тонна болсо, канча салмактагы буудай канча салмактагы ачыткычты алмаштырат (тоннада). Ачыткычтарды малдын жемине кошуп бергенден кийинки натыйжадан алынган малдын кошкон салмагын аныктоо керек.

Чыгаруу. Бир айда заводдо өндүрүлгөн ачыткычтардын массасын аныктайбыз:

$$G = \frac{105\,000 \cdot 1}{12} = 8750$$

Экономдолгон буудайдын массасын эсептейбиз: G =8750 Х 7,8=68250 жана малдын кошкон салмагы: 8750·1,5= 13 125 түзөт.

Тапшырма 5. БВК заводунун өндүрүмдүүлүгү жылына 35 мин тоннаны түзөт. Эгерде парафиндин кеткен чыгымы 1,4 барабар болсо, а 1 тонна парафин алуу үчүн 2,3 тонна нефти керек болсо, мындай массадагы БВК ны алуу үчүн парафиндин жана нефтинин салмагын табуу керек.

Жообу: 49 жана 112,7 мин тонна.

Тапшырма 6. Эгерде 140 миң тонна суюк парафинди өндүрүү үчүн эмгектенсе, жалпы заводдогу чарбалык иштерде 67 адам эмгектенет. Жумушчулардын эмгегинин жылдык орточо убактысы 1872 саат. Анда 1 тонна суюк парафинди өндүрүүгө жумшалган эмгекти эсептөө керек. 1 тонна суюк парафинди өндүрүүгө кеткен чыгым 1- таблицада көрсөтүлгөн.

1-таблица

амортизациондук тазалагычтар жана каражаттар	1 т суюк парафинди өндүрүүгө кеткен чыгымдын орточо көрсөткүчтөрү	Эмгекчилердин саатына жумшалган эмгеги
Нефть тонна менен	2,30	5,50
Электроэнергия, миң кВт·саат	0,231	6,14
Отун:	0,298	1,32
Газ, миң $м^3$	0,80	9,00
мазут, т	0,0457	48,00
Реагенттер, т	6,420	0,91
Амортизациондук тазалагычтар		

Жообу: саатына 30 адам

Тапшырма 7. Биохимиялык заводдун ачытки цехинин кургатуучу бөлүмүндө 4 үйлөп кургатуучу аппараттар орнотулган, 1 – кургаткычтын проектик өндүрүмдүүлүгү саатына 6,5 т. Иштөө

режими үзгүлтүксүз. Кургатуучу бөлүмдүн БВК ны жылдык өндүрүмдүүлүгү орточо 20 мин тонна. Келе жаткан жылга төмөндөгүдөй көрсөткүчтөгү план каралган:

Кургаткычтын өндүрүмдүүлүгү, саатына тонна менен; 6,3

Кургаткычтын токтошу, саатына:

Капиталдык ремонтко - 460
Майда ремонтторго - 276
Коммуникациялык ремонтторго - 120

Каражаттарды экстенсивдүү жана интенсивдүү колдонуунун коэффициентин эсептөө керек.

Жообу. 0,902; 0,938.

Тапшырма 8. Эгерде кургатуучу бөлүмдүн орточо жылдык баасы 95 миң сомду түзсө, анда БВК ны өндүрүүдө заводду аммортизациялык тазалоодогу жылдык сумманы аныктоо керек. Аммортизациялык тазалоонун нормасы: калыбына келтирүү үчүн 9 %, капиталдык ремонтко 5 % кетет.

Жообу: 13,3 тыс. сом.

Тапшырма 9. Продукциянын жалпы баасы 395 сом, дүн басы 500 сом. Орточо жылдык баасы негизги өндүрүүчү фонддон 518 мин сом түзөт, айландыруудагы каражат 92 мин сом. Эгерде жылына азык болуучу ачыткычтарды 3500 тоннадан өндүрсө, анда андан түшкөн пайданы аныктоо керек.

Жообу: 367,5 мин сом.; 60,2%; 26,6%; 2,8 сом.

Тапшырма 10. 1 тонна азык болуучу ачыткычтарды өндүрүүдө саатына 25 адам эмгектенсе, анын дүн басы 500 сом, өндүрүштө 1570 адам эмгектенишет. Анда жылдык отчетто өндүрүштүн көлөмү 105 мин тоннаны түзсө, гидролиздик ачытуу заводунун өндүрүштүк эмгегин эсептөө керек.

Жообу: саатына1670 адам; 33446 сом.

Тапшырма 11. 31 тонна БВК ны өндүрүүдө өндүрүштүн көлөмү 650 м^3 жете турган болсо, ферментатордун интенсивдүүлүгүн эсептөө керек.

Жообу: жылына 47,7 тонна м^3.

Тапшырма 12. Гидролиздик заводдо жылына 3900 тонна азык болуучу, 0,60 чийки протеин, 0,05 липид, 0,015 углевод; 0,08 минералдык заттарды, 0,06 нуклеин кислотасын кармаган, нымдуулугу 0,10 салмакты түзгөн ачыткычтар чыгарылат. Күнүнө үзгүлтүксүз ферментацияда, ачыткычтар топтогон протеиндин, липиддердин жана нуклеин кислоталарынын салмагын аныктагыла.

Жообу: Протеин - 6,4, липид - 0,534 жана нуклеин кислотасы – 0,640 тонна.

Тапшырма 13. БВК ны өндүрүү үчүн азык туздарынын орточо бир күндүк чыгымы (кургак түрүндө): суперфосфат 107,88 тонна күнүнө, аммонийдин сульфаты - 51,95, аммофос - 55,65, калийдин хлориди - 21,53, магнийдин сульфаты - 10,79 тонна күнүнө түзөт ж.б. Эгерде 1 тонна салмактагы ачыткычты өндүрүү үчүн 0,19 массалык үлүшү менен 0,27 тонна суперфосфат керектелсе, анда аммонийдин сульфаты 0,13, калийдин хлориди 0,054 жана магнийдин сульфаты 0,027 түзөт Заводдун бир күндүк өндүрүмдүүлүгүн аныктоо керек.

Жообу: 399,61 тонна.

Тапшырма 14. 3-таблица боюнча жыгачтарды иштетүүдөн жана нефтинин суюк парафининен алынган БВК ны өндүрүүнүн көбүрөөк эффективдүү болгон варианттарын тандагыла.

2 - таблица

Көрсөткүч	сырье	
	натуралдык	синтетикалык
1 т май кислотасынын салыштырма баасы, сом.	805	370
1 т май кислотасын өндүрүүдө кеткен чыгым, сом.	180	292
	716	1302

Жообу: Синтетикалык сырье; 1 тоннасына 520 сом.

Тапшырма 15. Төмөндөгү катыштардан турган (салмактык үлүштө): нымдуулук 0,10, чийки протеин 0,55, липиддер 0,05,

углеводдор 0,18, кислоталар 0,05 болгон, 50 мин тонна азык болуучу ачыткычтардан алынган углеводдордун жана чийки протеиндин салмагы кандай?

Жообу: 27,5 жана 9 мин тонна.

Тапшырма 16. Эгерде бир жыл ичинде БВК ны өндүрүү, анын өндүрүмдүүлүгү лизин боюнча 8,5 мин тоннаны түзсө, анда төмөнкү составдагы ачыткычтардан алынган белоктордун салмагын аныктагыла (салмактык үлүштө): лизин 0,07, метионин 0,01, триптофан 0,02, аргинин 0,04, гистидин 0,015, треонин 0,03, валин 0,04, фенилаланин 0,02, лейцин 0,05, изолейцин 0,03.

Жообу: 121,4 мин тонна.

Кайталоо үчүн суроолор:

1. Биологиялык активдүү заттарды атагыла (БАЗ), алардын өсүмдүктөрдүн жана жаныбарлардын организмине тийгизген таасирин көрсөткүлө.
2. Технологиялык процесстерди интенсификациялоо үчүн кайсы химиялык жана металлургиялык өндүрүштөрдө биохимиялык биосинтездин продукциялары колдонулат?
3. Синтетикалык кир жуугуч каражаттарга, алардын сапатын жакшыртуу үчүн кайсы ферменттер кошулат?
4. Белок-витаминдик концентраттарды синтездөөнүн оптималдык шарттары кандай (БВК)?

5. Эгерде белокту синтездөөнү 20°C төмөнкү температурада өндүрсө, эмне болот?
6. Азык чөйрөсүнүн pH, ачыткычтардын культураларынын жашоосуна кандай таасир этет? Эгерде pH 1 ден төмөн болуп калса эмне болот?
7. Белок –витаминдик концентратка микробдук майлардын жана парафиндин калдыктарынын топтолушун кантип токтотууга болот?

8. БВК ны кургатуучу агент катары кайсы зат колдонулат?
9. БВ кошулмаларды өндүрүү үчүн колдонулган негизги сырьелорго мүнөздөмө бергиле?

10. БВ кошулмаларды алуу үчүн сырьелерду даярдоо эмнеге негизделген?

11. Ферменттер менен катализдөөдө, химиялык технологиялык процесстерде реакторлордун кайсы түрлөрү колдонулат?

12. БВК ны синтездөө үчүн суюлтулган парафинге кандай кошулмалар кошулат? Алардын массалык үлүштөрүн аныктагыла?

13. Микробиологиялык өндүрүш айыл чарбасында өз алдынча тармак болуп калган мезгилде, микроорганизмдердин нефтинин углеводдорун ажыратуу жөндөмдүүлүгү жөнүндөгү ачылыш качан болгон?

Текшерүү иштери үчүн суроолор:

I. Биотехнологиялык өндүрүштө кандай сырьелордун түрлөрү колдонулат?

1) Нефтинин углеводороддору, жаратылыш газы, спирттер, токой таштандылары, жыгачтарды иштетүүчү, тамак-аш өндүрүштөрүндөгү жана айыл-чарба өндүрүштөрүндөгү таштандылар.

2) Углеводдор, жаратылыш газы, нефтинин ароматикалык углеводороддору, спирттер, токой таштандылары, жыгачтарды иштетүүчү, тамак-аш өндүрүштөрүндөгү таштандылар.

3) Катуу парафиндер, жаратылыш газы, спирттер, токой таштандылары жана айыл-чарба өндүрүштөрүндөгү таштандылар.

4) Фенолдор, нефтинин углеводороддору, жаратылыш газы, токой таштандылары, жыгачтарды иштетүүчү жана айыл-чарба өндүрүштөрүндөгү таштандылар.

II. Химиялык өндүрүшкө караганда биотехнологиялык өндүрүштүн пайдалуулугу эмнеде?

1) Жогорку өндүрүмдүүлүгү, аппаратуралардын керектелишинин жөнөкөй чечилиши, процесстин үзгүлтүксүздүгү, энергияга болгон муктаждыктын жоктугу.

2) Автоматташтыруу жана механизациялоонун женил жүрүшү, процесстин үзгүлтүксүздүгү, суунун аз сарпталышы, өндүрүштө эмгектин аз жумшалышы.

3) Сырьелордун арзан болушу, автоматташтыруу жана механизациялоонун женил жүрүшү, процесстин үзгүлтүксүздүгү, суунун аз сарпталышы, жогорку өндүрүмдүүлүгү.

4) Өзгөчө шарттарды талап кылбайт (t, p), алынган продукталар адамдар жана жаныбарлар үчүн уулуу эмес, технологиялык процесс үзгүлтүксүз жүргүзүлөт, автоматташтыруу жана механизациялоонун женил жүрүшү, экология үчүн зыяндуу эмес.

III. БВК ны өндүрүштө өндүрүүдө негизги сырье болуп эмне саналат?

1) Парафиндер ($C_{15}H_{32}$ - $C_{25}H_{52}$), макроэлементтердин минералдык туздары, суу, аба, *Candida Inilliermondii* ачыткычынын штаммы.
2) Тазаланган суюк парафиндер ($C_{10}H_{22}$ - $C_{18}H_{38}$), карбиддик ыкма менен нефтиден бөлүнүп алынган фракциялар, макро- жана микроэлементтердин минералдык туздары, суу, аба, *Candida Inilliermondii* ачыткычынын штаммы.
3) Суюк парафиндер ($C_{10}H_{22}$ - $C_{18}H_{38}$), карбиддик ыкма менен нефтиден бөлүнүп алынган фракциялар, макро- жана микроэлементтердин минералдык туздары, суу, аба, *Renobacter Vacuolatum* ачыткычынын штаммы.
4) Тазаланган суюк парафиндер ($C_{10}H_{22}$ - $C_{18}H_{38}$), макро- жана микроэлементтердин минералдык туздары, суу, аба, *Microsucleus major* микроорганизминин штаммы.

IV. Эгерде көмүртектик азыктандырууда технологиялык нормадан чыгып кетсе эмне болот?

1) Биомассанын чыгышы кескин төмөндөйт, биомассада белоктордун кармалышы азайып жана липиддердин саны көбөйөт.
2) Клеткаларда парафиндерди синирүү процесси көбөйөт, өндүрүштүк чыгымдар көбөйөт, клеткалардын бөлүнүү жана көбөйүү процесстери төмөндөйт.
3) Биомассанын чыгышы төмөндөйт, көмүртектик сырьелордун ажырашы токтойт, ачыткычтардын клеткалары өзүнүн активдүүлүгүн жоготот.
4) Ачыткычтардын клеткалары өзүнүн активдүүлүгүн жоготот, клеткалардын бөлүнүү жана көбөйүү процесстери төмөндөйт, культуралдык суюктук көбүктөнүп, аппараттан чыгып кетүүсү жүрөт.

V. Азык чөйрөдө азоттун жетишсиздиги эмнеге алып келет?

1) Энергиянын клеткага интенсивдүү берилишине.
2) Белоктун синтездөө процессинин токтошуна.

3) Биомассада белоктордун кармалышы азайып жана липиддердин саны көбөйөт.
4) Клеткалардын кескин көбөйүшүнө.

VI. Азык чөйрөдө фосфордун жетишсиздиги эмнеге алып келет?

1) Углеводороддук сырьелордун ажыроосунун төмөндөшүнө жана клеткада синтез процессинин токтошуна.
2) Нуклеин кислотасынын кармалышынын стабилденишине.
3) Культуралдык суюктуктун көбүктөнүшүнө.
4) Углеводороддук калдыктардын биомассада топтолушуна.

VII. Калий БВК нын синтезине кандай таасир тийгизет?

1) Энергиянын клеткага берилишин жакшыртат.
2) Биомассада белоктордун кармалышы азаят.
3) Клеткалардын көбөйүшүнө жана белоктун топтолушуна шарт түзүлөт.
4) Микроорганизмдердин нормалдуу өөрчүшүн камсыз кылат.

VIII. Азык чөйрөсүндө магнийдин болушу эмнени камсыз кылат?

1) Микроорганизмдердин нормалдуу өөрчүшүн, клеткаларда парафиндерди сиңирүүсү, көптөгөн ферменттердин иштөөсүн активдештирет жана нуклеин кислоталарынын кармалышын турукташтырат.
2) Клеткаларда парафиндердин сиңирүүсүн жөнгө салат, көптөгөн ферменттердин иштөөсүн активдештирет жана биомассада нуклеин кислоталары көп санда кармалат.
3) Микроорганизмдердин нормалдуу өөрчүшүн, белоктордун топтолушун, көмүртектик сырьелордун ажырашын, көптөгөн ферменттердин иштөөсүн активдештирет.
4) Биомассада нуклеин кислотасынын көп санда кармалышы, өндүрүштүк чыгымдардын төмөндөшү жана продуктанын өндүрүмдүүлүгүнүн жогорулашында.

IX. Ферменттерди синтездөөдө кандай типтүү аппараттар колдонулат?

1) Ферментатор, муздаткыч, сепаратор, центрифуга, вакуум бууландыргыч, кургатуучу барабан.

2) Реактор, сепаратор, ультрачыпкалоочу аппарат, ректификацияланган колонналар, буулапдыргычтар жана кургаткычтар, формага салуучу аппараттар.

3) Реактор, сепаратор, жылуулук алмаштыргыч, сатуратор, барабандуу вакуум-фильтр, кургатуучу жана формага салуучу аппараттар.

4) Реактор, сепаратор, ректификациондук колонналар, электрочыпка, жылыткыч жана кургатуучу аппарат.

X. Биотехнологиялык өндүрүштөрдө суу.ларды тазалоо кандай баскычтардан турат.

1) Механикалык тазалоо, физикалык-химиялык тазалоо, чыпкалоо.
2) Механикалык тазалоо, чыпкалоо жана химиялык тазалоо.
3) Чөктүрүү, биохимиялык тазалоо.
4) Механикалык тазалоо жана биохимиялык тазалоо.

ТИРКЕМЕ

Хром аралашмасынын даярдалышы

Биринчи ыкма - бихромат калийди сууда эритип, эритменин үстүнө акырындык менен H_2SO_4 кошот. Аралашма төмөнкү эсептөө менен даярдалат.
-Суу-100 мл
-Калийдин бихроматы- 6 г
-Күкүрт кислотасы-1,84 г\ $см^3$ – 100 мл.

Экинчи ыкма - 5% (кислотанын көлөмүнө карап) концентрацияланган күкүрт кислотасына жакшы талкаланган калийдин бихроматын кошот. Алынган аралашманы аралаштырып, эригенге чейин бир күнгө коюп коет. Даяр болгон эритме ток сары түстө болот, аны идиштерди жууш үчүн пайдаланса болот. Хром аралашмасынын түсү ток жашыл түскө өзгөргөндө иштетүүгө мүмкүн эместигин билдирет.

Дезинфекциялалоочу эритме

Микробиологиялык лабораториялардын практикасында көбүнчө дезинфекциялай турган эритмелер колдонулат.
Фенол (карбол кислотасы) – 3-5.
Хлорамин-0,5 – 3,0.
Сода (натрийдин бикорбанаты) – 2-3.
Жумушчу столду тазалоо, колду дезинфекциялоо үчүн 70 %-түү этил спирти же изопропил спиртин колдонсо болот.

Дюбуа методу боюнча күкүрттүү фенолду даярдоо

- 250 мл. үлгү
-0,5 мл. 5 % фенол
-2 мл. H_2SO_4
- ФЕК аппаратында Д 480 карайт
-Стандарт түрүндө: 5-25 мкг. углевод кармалат.

Редуцирлей турган заттарды аныктоо

1. 0.1 мл. үлгү
2. 0,1 мл. Самоджи реактиви
3. 2,2 мл. H_2O
4. 0,1 мл. Нельсон реактиви

Самоджи эритмеси

А. 25г – $Na_2(CO_3)$ (суусуз)

25г – сегнет тузу (K-Na вино-кычкылы)

20г – $NaHCO_3$

200г – Na_2SO_4 (суусуз)

В. 100мл эритмеге 15% $CuSO_4 + 5H_2O$ эки тамчы конц. H_2SO_4 кошот. Аныктоого чейин 1мл В+25мл А эритмелери аралаштырылат. В:А=1:25.

Нельсон эритмеси

Кетоз жана олигосахариддерди алуу үчүн кетоз кармаган реактивдер.

5г мочевинаны 20 мл 2н HCl эритет.(3,3 мл концентрацияланган туз кислотасын 20 мл көлөм болгонго чейин суу менен аралаштырат) жана ага 100 мл этанол кошот.

Айнек идиште боек эритмесин даярдоо

1г негиздик фуксинди майдалагычта 15мл 95 %-түү спирт кошуп майдалайт. Ошол эле учурда 2г танинди 15мл сууда кайнаганга чейин ысытат. Даяр болгон эритмелер бирдей көлөмдө аралаштырылат.

Фиксирлөөчү суюктукту даярдоо

Фиксирлөөчү суюктук	*Фиксациянын убактысы*
96 %-түү этил спирти	10-15 мин.
Метил спирти, суусуз	3-5 мин.
Никифорова аралашмасы (этил спирти, күкүрт жана эфир тең көлөмдө)	10-15 мин.
Спиртоформол (40 %-түү формалин -5мл жана 96 %-түү спирт-95мл.)	5-15 мин.
Формалиндин 40 %-түү буусу	бир канча сек.
Карнуа фиксатору (96%-түү спирт -60мл, хлороформ-30мл, муздай уксус кислотасы- 10мл)	15 мин

Кээ бир боекторду жана реактивдерди даярдоо

Микроорганизмде микробдорду негизги боектор менен боейт. Кычкыл боектор микробдорду боебойт же болбосо аз санда боейт.

Фуксин эритмеси.
Негизги фуксин -10г,
90%түү этил спирти – 100мл.

Гецицианвиолет эритмеси.
Геницианвиолет -10г,
96 %-түү этил спирти – 100мл.

Геницианвиолеттин ордуна кристалл же метилвиолет колдонсо болот. Эритме туруктуу болуп жакшы сакталат.

Күнүрт түстөгү идишке боектун порошогун салып, ага спиртти тамчылатып 37°Сдагы термостатка 18-24 саатка чейин коебуз. Мезгилдүү эритмени аралаштырабыз. Ушул убакта боектун чоң бөлүгү эрийт. Флакондун түбүндө калган кичине чөкмө каныккан эритме экендигин далилдейт. Негизинен каныккан спиртте эриген боекту даярдоодо, боектун суудагы эритмеси изилденүүчү эритмени ар кандай үлүштө дистирленген суу менен аралаштырабыз.

Боектун суудагы эритмеси

Тирүү организм үчүн препараттарды боеш үчүн 1:1000 катышта каныккан спиртте эриген боек колдонулат.

Фуксин эритмеси

Каныккан спирт эритмесиндеги фуксин -1мл.
Дисстирленген суу -100мл.

Метилен көк эритмеси

Каныккан спирт эритмесиндеги метилен көк -1мл.
Дисстирленген суу -1000 мл.

Микробиологиялык препараттарды боеш үчүн боектордун суудагы эритмесин 1:10, 1:40 концентрациядагы каныккан спирт эритмеси колдонулат.

Боектордун корбол кислотасындагы эритмеси

Цилдин карбол фуксини.

Каныккан спирт эритмесиндеги фуксин – 10г

5%-түү фенолдун суудагы эритмеси – 100 мл

Алынган аралашманы акырындык менен аралаштырып, чыпкалап алат. Генциан эритмеси, кристалл жана метилвиолет эритмелери туруксуз болгондуктан, аларды көп убакыт сактоо сунуш кылынбайт.

Карбол эритрозини

5%-түү фенолдун суудагы эритмеси -100мл,

эритрозин -3г.

Эритрозинди эриткенден кийин бир аз тынықтырылат.

Леффлер боюнча метилен көгү

Каныккан спирт эритмесиндеги метилен көк-30мл. 1%-түү калий гидроксидинин суудагы эритмеси-1мл. Дисстирленген суу -15 мл. Чыпкаланган каныккан метил көк эритмесине калийдин гидроксидин кошуп, суу менен ажыратат. Эритме өтө туруктуу, узак убакытка сактоого болот.

Судан III

5 %-түү концентрацияланган судан III май кошулмаларын бое үчүн колдонулат. Судан III -0,5 г 96 %-түү этил спирти же концентрацияланган сүт кислотасы 100 мл.

Негативдик препараттар үчүн сыя эритмеси

Кара боек – 50 мл , дисстирленген суу -15мл. Бөлүнгөн боек 2000-3000 айлануу мүнөтүндө 15-20 мүнөт айландырылат. Чоң бөлүктөрдү чөкмөгө чөктүрүү үчүн центрифугалайт.

Грамм боюнча бактерияларды бое үчүн Люголдун эритмеси

Кристалданган иод 01г, калий иодиди – 2г, дисстирленген суу - 300 мл.Калий иодиди 5-10 мл. дисстирленген сууда эритип, иоддун эритмесин кошуп, калий иодидинин ичиндеги иод толук эригенге чейин эритет (иод сууда эрибейт). Даярдалган эритме 30 күнгө чейин жарактуу, күңүрт идиште сактоо керек.

Гликогенди жана гранулезди аныктоо үчүн Люголь эритмеси

Кристаллданган иод – 7 г.
Калий иодиди – 20 г.
Дисстирленген суу – 300 мл.
Эртиме жогоруда берилгендей даярдалат. Аммиакты аныктоо үчүн Неслер реактиви.
KCI – 134 г.
HgCI – 500 мл.
KOH – 20 г.
Дисстирленген суу -32 г.
20 г. KI, 50 мл дисстирленген суудa эрийт. Эритме каныкканга чейин $HgCI_2$ (32г жакын) кошуп, андан ары 460 мл.дисстирленген суу жана 134г KOH кошуп, эритме күңүрт идиште сакталат. Көбүнчө холодильникте сакталса жакшы болот.

Нитриттерди жана нитраттарды аныктоо үчүн цинк-иод – крахмал реактиви

Крахмал – 2г.
$ZnCI_2$ – 50мл.
20 %-түү ZnI_2 эритмеси – 1г.
Дисс суу – 500 мл.
2г. крахмал.
2 г крахмалды анчалык көп эмес көлөмдөгү суудa эритип, тынымсыз аралаштыруу менен ка50 мл 20 %-түү $ZnCl_2$ эритмесине куят. Андан ары эритмеге 1г $ZnCl_2$ кошуп, эритменин көлөмүн дистиллирленген суда 500 мл чейин жеткирет. Эритме күнүрт идиште, карангы жерде сакталат.

Микроорганизмдердин коллекциялык культураларын сактоо

Микроорганизмдердин культураларын сактоо - өтө машакаттуу, татаал, көп эмгекти, убакытты жана каражатты талап кылган процесс.
Микроорганизмдердин коллекцияларын сактоо үчүн бир кыйла жөнөкөйүрөөк жана ыңгайлуу болгон эки ыкма колднулат: микроорганизмдерди жаны даярдалган азык чөйрөсүндө мезгилдүү өстүрүү жана культураларды минералдык майлардын алдында сактоо ыкмасы колдонулат.

Мезгилдүү өстүрүү ыкмасында микроорганизмдердин культураларын оптималдуу азык чөйрөсүндө өстүрүп, андан ары кийинки эгүүгө чейин сактап коет.

Акыркы ыкма көп эмгек жумшалгандыгына карабастан, азыркы күнгө чейин кенири колдонулуп келүүдө. Бул ыкма культураларды дайыма активдүү абалында кармап турууга жана культуралардын тазалыгын текшерип, көз салып турууга мүмкүндүк берет. Бирок кээде мезгилдүү эгүүдө микроорганизмдердин башка микроорганизмдер менен инфекцияланышы да кездешет. Культураларды жаны азык чөйрөгө кечиктирип эгүүдө, культура кургап же зат алмашуудан пайда болгон продукталардын натыйжасында ууланып калышы ыктымал. Ошондуктан бул ыкма эмгекти, көп убакытты жана азык чөйрөсүн, каражаттарды талап кылат.

Культураларды минералдык майдын астында сактоо жана кармоо, анын жөнөкөйлүгү менен микробиологиялык лабораторияларда кенири колдонулат. Бул ыкманын жүрүшү төмөндөгүдөй жыйынтыкталат.

Микроорганизмдердин культураларын оптимадцык, өздөрүнүн көнгөн азык чөйрөсүнө өстүрөт (көбүнчө агардан жасалган косяктарда). Микроорганизмдердин культураларын пайда болгон колониялар белгилүү өлчөмгө жеткенге чейин 5-7 күн, актиномицеттердин культураларын 10-14 күн өстүрөт.

Микроорганизмдердин культураларын жабуу үчүн нейтралдык минералдык май колдонулат, көбүнчө тыгыздыгы 0,8-0,9 мм болгон вазелин же парафин майы колдонулат. Майды автоклавда 1 атмосферада 45 мүнөт же термостатта $150\text{-}170^0$ С стерилдейт. Автоклавдан кийин буудан пайда болгон суу менен май аралашып чангылттанып калат.

Майды тундуруу үчүн 1-2 күн лабораторияда, комнаттык температурада коюп коет.

Культураларды май менен жабуу үчүн уч жагында резина труба кийгизилип, кадимки чон куйгучту тескерисинен коюп ага бириктирип, кадимки бөлгүч куйгуч колдонулат.

Микроорганизмдердин культураларын май менен жабууда майдын катмарынын калындыгы негизги мааниге ээ.

Майдын оптималдык катмары 1см, мында культуралар сакталып жана азык чөйрөсүнүн дегидратацияга учурашына жол бербейт. Микроорганизмдердин клеткаларында жүрүүчү зат алмашуу акырындайт. Эгерде майдын катмарынын калындыгы 1 см ден жогору болсо, анда микроорганизмдердин клеткаларына

кычкылтектин жетишсиздигинен культура өлө баштайт, ал эми 1 см ден аз болсо кургап калуудан сакталбай калат.

Үстүнө май куюлган микроорганизмдердин культураларын көбүнчө бөлмө температурасында 25° С, ал эми кээ бир культураларды 4-5° С муздаткычта сакташат.

СУНУШТАЛУУЧУ АДАБИЯТТАР

Негизги:

1. Бейли Д., Оллис Д. Основы биохимической инженерии, 2-бөлүмдөн турат частях. М.: «Мир», 1989.
2. Бекер М.Е., Лиепиньш Г.К., Райпулис Е.П. Биотехнология. М.: «Агропромиздат», 1990.
3. Биотехнология, 8-т. Под ред. Н.С.Егорова, В.Д.Самуилова. М.: «Высшая школа», 1987-1988.
4. Виестур У.Э., Шмите И.А., Жилевич А.В. Биотехнология: биотехнологические агенты, технология, аппаратура. Рига: «Зинатне», 1987.
5. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. М.: «Мир», 2002.
6. Грачева И.М. Технология ферментных препаратов. М.: «Агропромиздат», 1987.
7. Гриневич А.Г., Босенко А.М. Техническая микробиология. Мн.: «Вышэйшая школа», 1986.
8. Елинов Н.П. Основы биотехнологии. СПБ: «Наука», 1995.
9. Овчинников Ю.А. Биоорганическая химия. М.: «Просвещение», 1987.
10. Сельскохозяйственная биотехнология. Учебное пособие под ред. В.С. Шевелуха М.: «Высшая школа», 2003.
11. Синклер М., Берг П. Гены и геномы. М.: «Мир», т.1, 2, 1998.
12. Практикум по микробиологии / Под ред. Н.С.Егорова. Изд-во МГУ, 1976.
13. Аникиев В.В.,Лукомская К.А. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. М.: «Просвещение», 1983.
14. Берге В. Краткий определитель бактерий. М., Мир, 1980.
15. Квасников Е.И. Молочнокислые бактерии и пути их использования. М., Наука, 1975.

16. Мишустин Е.Н. Ассоциации почвенных микроорганизмов. М., Наука, 1975.

Кошумча:

1. Виестур У.Э., Кристапсонк М.Ж., Быликина Е.С. Культивирование микроорганизмов. - М.: Пищевая промышленность, 1980.-231 с.
2. Грачева И.М. Технология ферментных препаратов. - М.: Пищевая промышленность, 1976. - 248 с.
3. Дебабов В.Г.,Лившиц В.А. Биотехнология. Кн.2.Современные методы создания промышленных штаммов микроорганизмов. М.: Высш. школа, 1988.-208с.
4. Егоров Н.С., Олескин А.В.,Самуилов В.Д. Биотехнология (в 8 кн). Кн.1. Проблемы и перспективы. М.: Высш.школа. 1987. -159 с.
5. Емцев В.Т. Рубежи биотехнологии. М.: Агропромиздат. 1986. -159с.
6. Каталог-М.: ОНТИТЭИ микробиопром. 4,1 1976 - 148 с.
7. Муромцев Г.С., Бутенко Р.Г. Основы сельскохозяйственной биотехнологии. М.: Агропромиздат. 1990. -384 с.
8. Сассон А. Биотехнология: свершения и надежды. М.: Мир.,1987. -405 с.
9. Экологическая биотехнология. Под ред. Форстера и Вейда./ пер. с англ.- Л.: Химия, 1990.
10. Абылаева Б.А. Выделение, очистка и характеристика глюкана из базидиального гриба Fomes fomentarius – Я 55./ канд. Диссерт. 1998.
11. Е.М.Родина, Ш.А. Ильясов, З.А. Абайханов. Использование эммиссий из отходов для получения биогаза.

967163