

Култивирание на микроорганизмите

1. Същност

- Микробните продукти, които са в основата на микробиологичните промишлени производства, се синтезират от специални **щамове*** със строго определени генетични и физиологични свойства. Продуцентите на тези продукти се използват под формата на чисти култури.
- Колонии от микроорганизми, които имат общ генетичен произход - най-често произлизат от една изходна клетка или спора, се нарича **чиста култура**.
- Получаването, запазването и поддържането на чистите култури и други, зависят от процеса култивиране.
- Развитието на микроорганизмите при оптимални условия в течна или твърда хранителна среда, за постигане на определена цел, се нарича **култивиране**.

- Целите могат да бъдат различни: натрупване на биомаса, повишаване броя на микроорганизмите, получаване на микробен метаболит, съхранение и поддържане на чисти културни микроорганизми.
- Култивирането на микроорганизмите се извършва в стерилна хранителна среда с определен състав и при подходящи стойности на рН, t° , аерация и т. н. и може да протече при лабораторни или при производствени условия.



2. Видове култивиране

а) Повърхностно култивиране;

При този начин на култивиране микроорганизмите се развиват на повърхността на твърди или течни среди. Микробните клетки се разполагат на границата хранителна среда - въздух. Така се създава непосредствен контакт с кислорода от въздуха, който им осигурява аеробен начин на живот.

Повърхностното култивиране на лабораторните култури се извършва върху твърда агарова среда в епруветки или петрита.

В промишлеността методът на повърхностното култивиране се използва при производството на лимонена киселина от плесенната гъба *Aspergillus niger*.

При развитието на мицела на гъбата се образува плътна пелена на повърхността на течната среда и се синтезира лимонена киселина

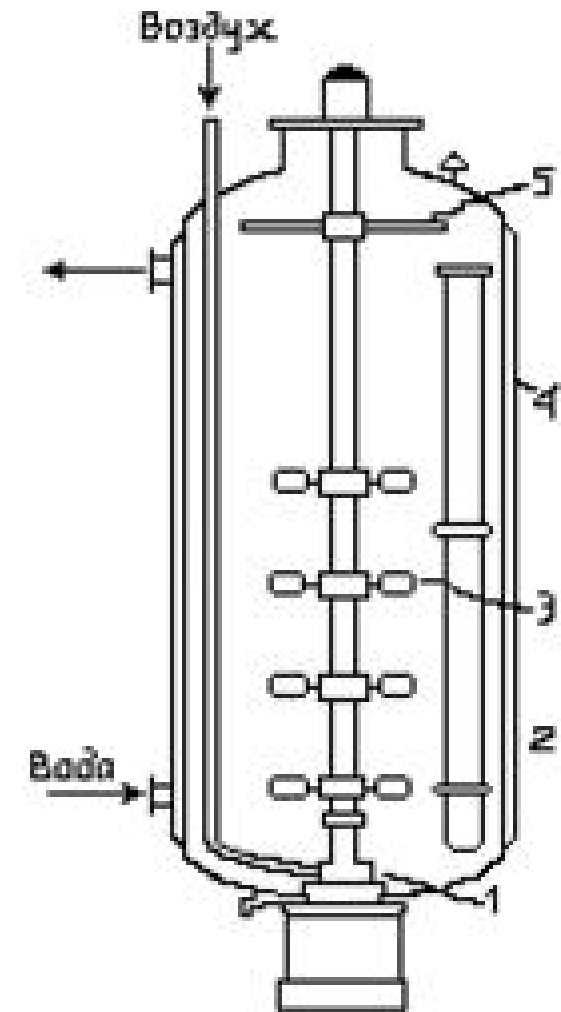


б) Дълбочинно култивиране;

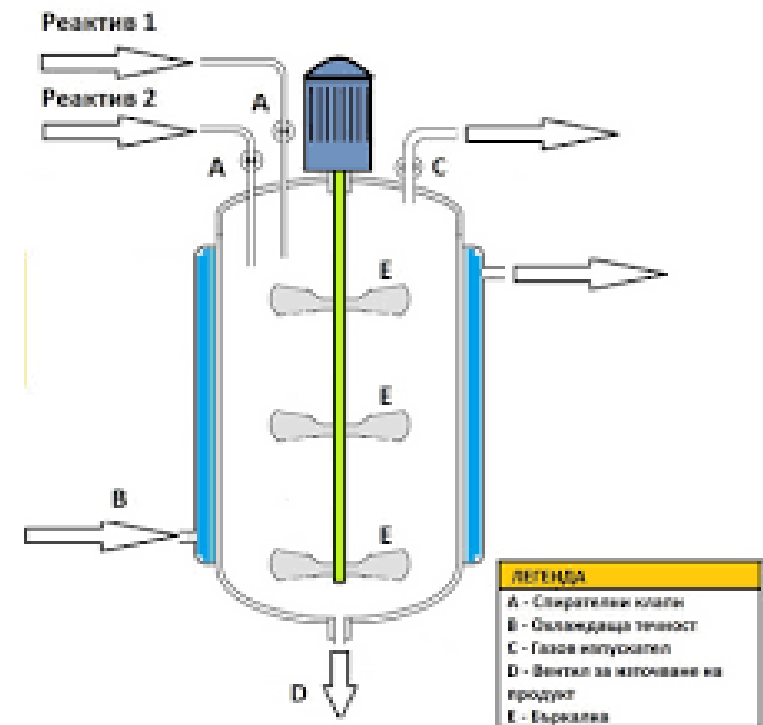
При този начин на култивиране микроорганизмите се развиват в дълбочина на течни хранителни среди. Анаеробните и факултативно анаеробните микроорганизми се размножават в целия обем на средата, където липсва кислород. По този начин се култивират масленокиселите, пропионовокиселите и млечнокиселите бактерии, както и захаромицетните дрожди.



- Култивирането на аеробните микроорганизми в течни среди не може да се проведе дълбочинно, ако не се осигури равномерен достъп на кислород до всички части на течността, респективно до всички микроорганизми. За целта течните среди се аерират. Това аериране се постига чрез разклащане, барбутиране, разбъркване, продухване на стерилен въздух и т. н. Разработването на методите за дълбочинно култивиране на аеробни микроорганизми играе важна роля в развитието на промишлената микробиология и дава тласък за мащабното производство на биопродукти.

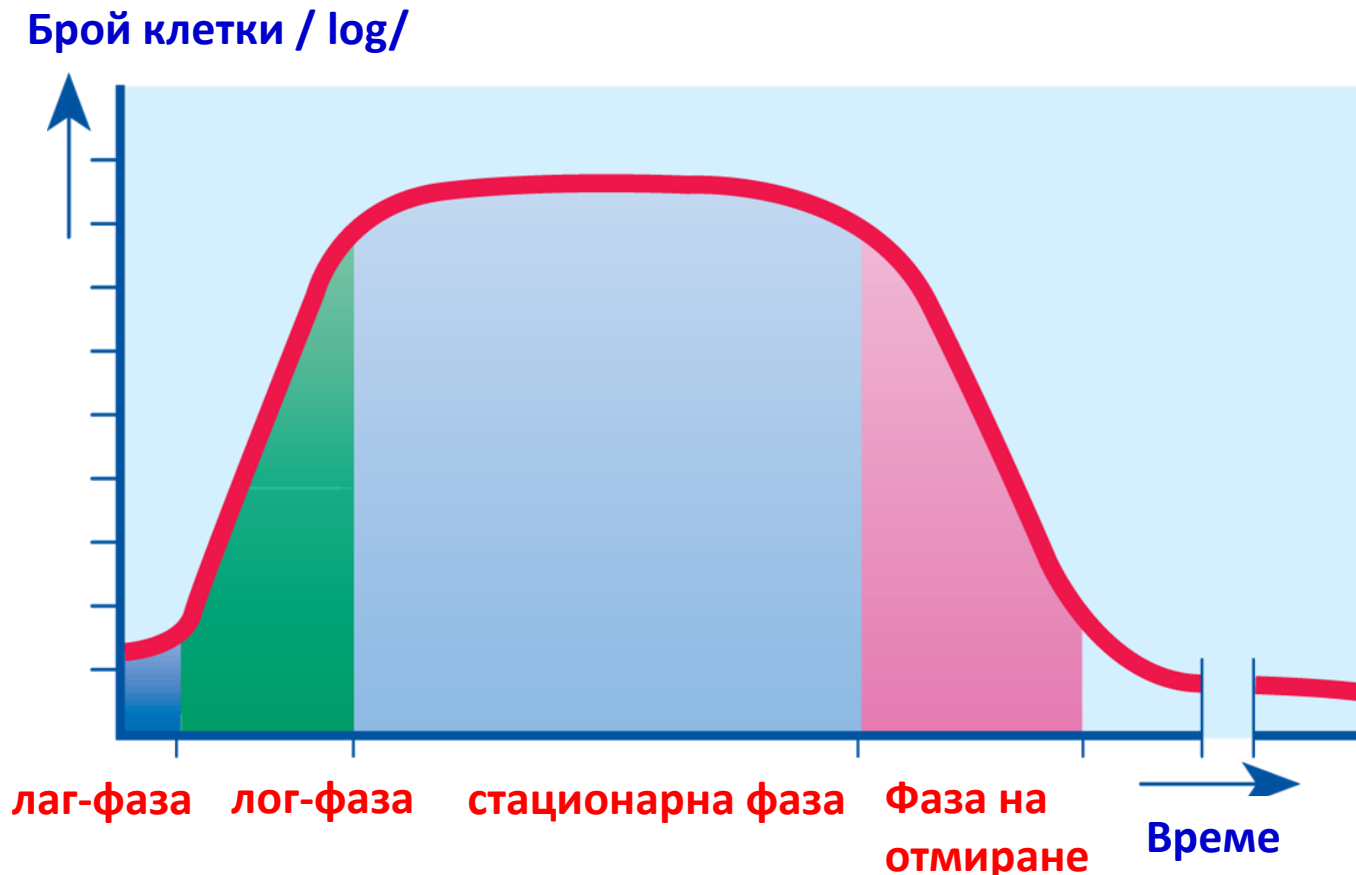


- Дълбочинното култивиране на микробните щамове в лабораторни условия се извършва в течни хранителни среди, които се разливат в епруветки или колби. Аериране се постига чрез разклащане, като се използват специални клатки, които извършват кръгови движения. Клатките се поставят в термостатна камера, в която се поддържа определена постоянна температура.
- В лабораторните биореактори микроорганизмите се развиват в течна стерилна хранителна среда, която се аерира със стерилен въздух. В тях се поддържат постоянна t° , рН и други условия на растеж.



в) Периодично култивиране;

При периодичното култивиране целият обем на хранителната среда се поставя в биореактора, прибавя се посевна култура и при поддържане на оптимални условия, процесът трае от 1 до няколко дни. То преминава през четири фази на растеж в течна хранителна среда:



- Начална (лаг-фаза);

Това е процес на приспособяване на микроорганизмите към средата, в началото след посяването. Тя е непроизводителна фаза.

- Експоненциална (лог-фаза);

Характеризира се с нарастване на клетките в геометрична прогресия и увеличаване на биомасата. През тази фаза протича синтезата на първичните мета-болити.

- Стационарна фаза; През тази фаза броят на клетките не се увеличава, тъй като броят на новообразуваните при деленето клетки се изравнява с броя на загиналите. Тя настъпва поради изчерпване на хранителните вещества от средата и натрупване на отпадни продукти на обмяната. През стационарната фаза се продуцират вторични метаболити, каквито са антибиотиците.

Когато количеството на синтезирания продукт стане максимално, процесът спира. Културалната течност се прехвърля в друг съд за по-нататъшна обработка.

- Фаза на отмиране

г) Непрекъснато култивиране;

При този начин на култивиране, биореакторът се запълва с хранителна среда и се засява с микробна култура. След достигане на определен растеж в него започва да се подава течна хранителна среда с постоянна скорост и непрекъснато се източва готова културална течност. С това логаритмичният растеж на микроорганизмите може да бъде продължен. Особено значение има скоростта на приток на хранителната среда и на източване на културалната течност. Скоростта трябва да бъде такава, че да позволява ефективно да се усвояват хранителните вещества и да се образуват метаболити и биомаса.

