Лекция 4. Биотрансформация с использованием растительных клеток. Микробная ферментация растительных материалов

.

Дисциплина: Технологии биообработки растительных материалов

Магистратура – Агробиотехнология

Кафедра биотехнологии, КазНУ имени аль-Фараби

проф. д.б.н. Кенжебаева С.С.

Цель лекции. Ожидаемые результаты обучения

Цель лекции. Сформировать у магистрантов системное представление о биологических основах, механизмах и современных технологиях биотрансформации с использованием растительных клеток и микроорганизмов, а также об их применении для преобразования растительного сырья, биосинтеза ценных метаболитов и получения биотехнологической продукции с высокой добавленной стоимостью.

- **Ожидаемые результаты обучения**

1. Характеризовать основные принципы и механизмы биотрансформации с использованием растительных клеток и микроорганизмов.
2. Анализировать особенности культивирования растительных клеток и тканей как биокаталитических систем.
3. Объяснять механизмы микробной ферментации растительных субстратов и роль основных групп микроорганизмов.
4. Сравнивать возможности растительных клеточных культур и микробных систем для получения ценных биологически активных соединений.
5. Оценивать влияние состава питательных сред, pH, температуры, аэрации и условий культивирования на эффективность биотехнологических процессов.
6. Обосновывать выбор растительных или микробных биотехнологических систем для получения целевых продуктов и комплексной переработки растительного сырья.

Понятие биотрансформации с использованием растительных клеток. Актуальность биотрансформации

Биотрансформация – это ферментативное превращение экзогенных соединений с использованием ферментных систем растительных клеток.

Актуальность биотрансформации

1. Высокая селективность реакций
2. • Экологически безопасные процессы
3. • Получение биологически активных веществ
4. • Альтернатива химическому синтезу

Типы растительных клеточных культур

1. Каллусные культуры

- Недифференцированная клеточная масса, формирующаяся из растительных эксплантов на питательной среде.
- Используются для изучения клеточного метаболизма, регенерации растений и получения вторичных метаболитов.

2. Суспензионные культуры

- Отдельные клетки и небольшие клеточные агрегаты, культивируемые в жидкой питательной среде.
- Характеризуются возможностью масштабирования и применяются для биосинтеза ценных соединений и биотрансформации субстратов.

3. Иммобилизованные клетки

- Растительные клетки, закреплённые на носителях или заключённые в полимерные матрицы (например, альгинатные гели).
- Обеспечивают возможность повторного использования биокатализатора и проведения контролируемых процессов биотрансформации.

4. Культуры трансформированных корней (hairy roots)

- Корневые культуры, полученные преимущественно при трансформации с участием Rhizobium rhizogenes (ранее Agrobacterium rhizogenes).
- Отличаются генетически обусловленным интенсивным ростом и способностью синтезировать специализированные метаболиты, характерные для корней.

Основной вывод: Выбор типа клеточной культуры определяется природой целевого продукта, особенностями клеточного метаболизма и технологическими условиями биотрансформации.

Основные реакции биотрансформации

1. Гидроксилирование

- Введение гидроксильной группы (–OH) в молекулу органического соединения.
- Катализируется, в частности, монооксигеназами цитохрома P450.
- Изменяет растворимость, химическую активность и биологические свойства соединений.

2. Гликозилирование

Присоединение сахарного остатка к молекуле субстрата под действием гликозилтрансфераз.

Может повышать водорастворимость, стабильность и способность к накоплению метаболитов.

Применяется для модификации фенольных соединений, флавоноидов и других природных веществ.

3. Метилирование

Перенос метильной группы (–CH_3) на молекулу субстрата с участием метилтрансфераз.

В качестве донора метильной группы часто используется S-аденозилметионин (SAM).

Влияет на химическую стабильность, реакционную способность и биологическую активность метаболитов.

4. Окислительно-восстановительные реакции

- Превращение функциональных групп путём переноса электронов или атомов водорода.
- Катализируются оксидоредуктазами, включая дегидрогеназы и редуктазы.
- Используются для модификации альдегидов, кетонов, спиртов и других органических соединений.

Основной вывод: Реакции биотрансформации обеспечивают направленную модификацию структуры природных соединений, позволяя изменять их физико-химические свойства, биологическую активность и технологическую ценность.

Преимущества растительных клеток. Применение в агробиотехнологии

Преимущества растительных клеток

1. **Высокая регио- и стереоспецифичность**
2. **Способность к сложным модификациям**
3. **Минимум побочных токсичных продуктов**

Применение в агробиотехнологии

1. **Модификация фенольных соединений**
2. **• Усиление антиоксидантной активности**
3. **• Биоконверсия вторичных метаболитов**
4. **• Функциональные ингредиенты**

Связь биотрансформации с зерновыми культурами

1. Модификация фенольных соединений отрубей

1. Пшеничные и ржаные отруби содержат фенольные кислоты, преимущественно связанные с компонентами клеточных стенок.
2. Ферулоилэстеразы и другие ферменты способствуют высвобождению связанной феруловой кислоты.
3. Биотрансформация может повышать доступность фенольных соединений и изменять антиоксидантные свойства продуктов.

2. Биоконверсия флавоноидов

1. Растительные клеточные культуры и микроорганизмы способны осуществлять гликозилирование, гидроксилирование и другие превращения флавоноидов.
2. Эти реакции изменяют растворимость, стабильность и биологическую активность соединений.
3. Перспективны для получения модифицированных природных антиоксидантов и функциональных ингредиентов.

3. Повышение пищевой ценности зернового сырья

1. Ферментативная и микробная обработка способствует частичному расщеплению сложных полисахаридов и белков.
2. Фитазы снижают содержание фитатов, потенциально повышая биодоступность железа и цинка.
3. Ферментация может улучшать усвояемость отдельных компонентов и функционально-технологические свойства зерновых продуктов.

Основной вывод: Биотрансформация зернового сырья способствует высвобождению и модификации биоактивных соединений, повышению доступности питательных веществ и разработке функциональных пищевых ингредиентов.

Комбинированные технологии биотрансформации

1. Биотрансформация + ферментативная обработка

Предварительный ферментативный гидролиз повышает доступность компонентов растительного сырья для последующей биотрансформации.

Целлюлазы, гемицеллюлазы и протеазы способствуют расщеплению сложных биополимеров.

Сочетание методов позволяет повысить выход целевых метаболитов и эффективность использования субстратов.

2. Биотрансформация + микробная ферментация

Растительные клеточные культуры могут синтезировать или модифицировать биологически активные соединения, которые затем подвергаются микробной биоконверсии.

Микроорганизмы осуществляют гидролиз, окисление, восстановление и другие превращения органических соединений.

Последовательное применение биокаталитических систем расширяет возможности получения функциональных ингредиентов.

3. Интегрированные биопроцессы

Объединяют предварительную обработку сырья, ферментативный гидролиз, биотрансформацию и микробную ферментацию.

Позволяют организовать последовательное использование различных компонентов растительной биомассы.

Применяются в концепции биорефинерии для получения биохимикатов, пищевых ингредиентов, биотоплива и других ценных продуктов.

Пример для зернового сырья:



Основной вывод: Комбинированные биотехнологии обеспечивают более полное использование растительного сырья, расширяют спектр получаемых продуктов и способствуют развитию ресурсосберегающих производств.

Технологический процесс биотрансформации

- Культивирование растительных клеток
- Введение субстрата
- Ферментативная модификация
- Выделение и очистка продукта

Внутриклеточный механизм биотрансформации

- Транспорт субстрата через мембрану
- Действие специфических ферментов
- Образование модифицированного метаболита
- Накопление или секреция продукта

Интеграция биотрансформации в агробиотехнологию

- Растительное сырьё
- Клеточные культуры
- Биокаталитическая модификация
- Функциональные продукты

Биокаталитическая модификация

Биокаталитическая модификация — это целенаправленное изменение химической структуры органических соединений под действием биологических катализаторов (ферментов, микроорганизмов или клеточных культур), обеспечивающее высокую селективность, мягкие условия реакции и минимальное образование побочных продуктов.

Ключевые признаки:

1. высокая регио- и стереоспецифичность;
2. протекание при умеренных температурах и pH;
3. экологическая безопасность;
4. возможность модификации биологически активных веществ.

В контексте растительного сырья биокаталитическая модификация направлена на:

1. гидролиз антипитательных факторов;
2. гликозилирование фенольных соединений;
3. высвобождение макро- и микроэлементов (Mg, Ca, Fe, Zn и другие)

Функциональные продукты

- **Функциональные продукты** — это пищевые или кормовые продукты, которые, помимо основной питательной ценности, обладают доказанным физиологическим эффектом и способствуют улучшению здоровья, профилактике заболеваний или повышению адаптационного потенциала организма.
- **Основные характеристики:**
- наличие биологически активных компонентов;
- подтверждённое положительное воздействие;
- научно обоснованный механизм действия.
- В агробиотехнологии функциональные продукты могут включать:
- продукты с повышенной биодоступностью Fe и Zn;
- ферментированные зерновые ингредиенты;
- обогащённые антиоксидантами отруби;
- кормовые добавки с улучшенной переваримостью.

Общие принципы микробной ферментации

Микробная ферментация представляет собой биохимический процесс преобразования органических компонентов растительного сырья под действием микроорганизмов.

- **В ходе ферментации происходят гидролиз полимеров, синтез органических кислот, витаминов и биологически активных соединений.**
- **Суть процесса:** Превращение трудноусвояемых растительных полимеров в ценные продукты (белок, биотопливо, органические кислоты) с помощью микроорганизмов.
- **Сырьевая база:** Возобновляемые ресурсы — отходы сельского хозяйства (солома, шелуха), деревообработки (опилки) и пищевой промышленности.
- **Экологическая роль:** Утилизация крупнотоннажных отходов и снижение углеродного следа (концепция «зеленой химии»).

Структура растительного сырья как барьер для микробной ферментации

Растительная биомасса (лигноцеллюлоза) состоит из трех главных компонентов:

Целлюлоза (35-50%): Линейный кристаллический полимер глюкозы. Основной каркас, устойчивый к гидролизу.

Гемицеллюлоза (20-35%): Разветвленный гетерополимер различных сахаров (ксилоза, арабиноза). Разрушается легче целлюлозы.

Лигнин (10-25%): Трехмерный нерегулярный ароматный полимер. Неуглеводный компонент, который «цементирует» оболочку и блокирует доступ ферментов к сахарам.

Этапы технологического процесса

1. **Предварительная обработка (предобработка):** Разрушение структуры лигнина и измельчение сырья. Применяют физические (пар, взрыв), химические (кислоты, щелочи) или биологические методы.
2. **Ферментативный гидролиз (сахарификация):** Расщепление полимеров до растворимых моносахаров (глюкоза, ксилоза) под действием ферментов.
3. **Микробная ферментация:** Переработка полученных сахаров микроорганизмами в целевой продукт.

Типы микробной ферментации и режимы

- **Твердофазная ферментация (ТФФ):** Культивирование на влажных твердых субстратах без свободной воды. *Плюсы: низкие затраты энергии, концентрированный продукт. Минусы: сложный контроль температуры и pH.*
- **Глубинная ферментация (ГФ):** Культивирование в жидкой среде. Плюсы: легкий контроль параметров, высокая скорость процесса. Минусы: большой расход воды, разбавленные растворы продуктов.
- **Критические параметры:** Температура (*мезофилы*: 30-40°C), *термофилы*: 50-60 °C), pH (4.5-5.5 для грибов, 6.5-7.5 для бактерий), аэрация (для аэробных деструкторов).

Ключевые микроорганизмы и их ферменты

Целлюлолитический комплекс: Включает эндоглюканазы (расщепляют цепь внутри), экзоглюканазы (отщепляют куски с концов) и beta-глюкозидазы (расщепляют дисахарид целлобиозу до глюкозы).

Основные продуценты:

- **Грибы:** Роды *Trichoderma* (лидеры по выходу целлюлаз), *Aspergillus*, *Penicillium*.
- **Бактерии:** Роды *Clostridium* (термофилы, имеют особые структуры — целлюлосомы), *Bacillus*, *Cellulomonas*.
- **Разрушители лигнина:** Базидиальные грибы (белая гниль), выделяющие лигнин-пероксидазы и лакказы.

Основные продукты микробной ферментации (конверсии)

- **Протеин (белок одноклеточных):** Обогащение соломы и отходов белком грибов/дрожжей для создания высококачественных кормов.
- **Биотопливо:** Биоэтанол (второго поколения), биогаз (метан), биоводород.
- **Промышленные молекулы:** Органические кислоты (молочная, лимонная), ферментные препараты для текстильной и целлюлозно-бумажной промышленности.

Основные группы микроорганизмов, применяемые для микробной ферментации растительных материалов

Микроорганизм	Группа	Субстрат	Основной эффект
Lactobacillus spp.	Молочнокислые бактерии	Зерно, отруби	↓ pH, ↑ биодоступность макро и микроэлементов (Fe/Zn)
Saccharomyces cerevisiae	Дрожжи	Сахара	Синтез витаминов группы B
Aspergillus spp.	Микроскопические грибы	Полисахариды	Ферментативный гидролиз
Bacillus spp.	Спорообразующие бактерии	Лигноцеллюлоза	Биоконверсия отходов

Микробная ферментация зерновых культур

Культура	Микроорганизм	Целевой компонент	Результат
Пшеница	*Lactobacillus spp.*	Фитаты	↑ Макро- и микроэлементов (Fe/Zn) биодоступность
Пшеница	*Saccharomyces spp.*	Сахара	Синтез витаминов
Ячмень	*Lactobacillus spp.*	β-глюканы	↓ вязкость
Ячмень	*Aspergillus spp.*	Полисахариды	↑ переваримость

Ферментация побочных продуктов и отходов АПК

Ферментация отходов АПК — биотехнологический процесс преобразования органических компонентов сельскохозяйственных и перерабатывающих остатков с использованием микроорганизмов для получения ценных биопродуктов.

1. Основные виды сырья

Зерновые отходы: отруби, солома, шелуха, остатки мукомольного производства.

Растительные остатки: жом, выжимки, стебли и листья сельскохозяйственных культур.

Побочные продукты пищевой промышленности, содержащие углеводы, белки и другие органические соединения.

2. Микроорганизмы и процессы ферментации

Дрожжи (Saccharomyces cerevisiae) — получение биоэтанола из ферментируемых сахаров.

Молочнокислые бактерии — производство молочной кислоты и ферментированных кормовых продуктов.

Микроскопические грибы (Aspergillus, Trichoderma) — синтез целлюлаз, амилаз и других гидролитических ферментов.

Микробные консорциумы — комплексная биоконверсия органических компонентов сырья.

3. Основные продукты и применение

Органические кислоты — пищевая и биохимическая промышленность.

Ферментные препараты — переработка растительного сырья.

Биоэтанол и биогаз — возобновляемая энергетика.

Ферментированные кормовые ингредиенты — животноводство.

Биотехнологическое значение: снижение органической нагрузки отходов, повышение эффективности использования растительной биомассы и получение продукции с высокой добавленной стоимостью.

Ферментация побочных продуктов и отходов АПК

Микробная ферментация широко используется для переработки побочных продуктов зерновых культур с целью получения кормов, биоудобрений и функциональных ингредиентов.

Сырьё	Микроорганизм	Процесс	Конечный продукт
Отруби	*Lactobacillus spp.*	Молочнокислая ферментация	Функциональные корма
Солома	*Bacillus spp.*	Биоконверсия	Биоудобрения
Шелуха	*Aspergillus spp.*	Твёрдофазная ферментация	Кормовые добавки
Жмыхи	Микробные консорциумы	Ферментация	Органические кислоты

Использование микробной ферментации в пищевой промышленности

В пищевой промышленности микробная ферментация трансформирует сырье за счет контролируемого роста микроорганизмов. Процесс формирует вкус, аромат и текстуру продуктов.

Процесс направлен на улучшение органолептических свойств и продление срока годности.

•**Производство чая**: Окисление полифенолов под действием собственных ферментов листа и микрофлоры.
Процесс формирует темный цвет, вяжущий вкус и специфический аромат черного чая и пуэра.

•**Молочные продукты**: Сбраживание лактозы молочнокислыми бактериями.
Приводит к образованию молочной кислоты. Она створаживает белок, создавая йогурт, кефир и сыр.

•**Хлебопечение**: Дрожжевое брожение сахаров с выделением углекислогогаза.
Газ разрыхляет тесто, обеспечивая пористость и объем мякиша.

•**Ферментированные овощи**: Квашение капусты и соление огурцов за счет диких штаммов лактобактерий.
Кислая среда подавляет рост гнилостных микроорганизмов.

Использование микробной ферментации в сельском хозяйстве

Процесс ориентирован на заготовку питательных кормов и переработку отходов.

- **Силосование кормов**: Закладка сочных трав в анаэробные условия. Молочнокислые бактерии быстро снижают pH массы до 4.0–4.2. Это консервирует корм на зиму.
- **Сенажирование**: Ферментация подвяленной травы с ограниченным доступом воздуха.
Сохраняет больше белка и сахаров по сравнению с силосом.
- **Биогазовые технологии**: Метановое брожение навоза и растительных остатков.
На выходе получают горючий биогаз и стерильные органические удобрения.
- **Твердофазная ферментация**: Выращивание грибного мицелия на соломе или лузге.
Повышает содержание протеина в отходах, превращая их в кормовые добавки.

Сравнительные характеристики микробной ферментация в пищевой промышленности и сельском хозяйстве

Критерий	Пищевая промышленность	Сельское хозяйство
Главная цель	Вкус, аромат, безопасность	Сроки хранения, объемы, калорийность
Стерильность	Высокая (чистые культуры)	Низкая (естественная микрофлора)
Основные агенты	Дрожжи, лактобактерии, плесени	Лактобактерии, метаногены, целлюлозолитики
Сроки процесса	От часов (хлеб) до месяцев (сыр)	От недель (силос) до постоянного цикла

Заключение

1. Биотрансформация растительными клетками основана на использовании метаболического и ферментативного потенциала клеточных культур для синтеза и модификации биологически активных соединений.

2. Каллусные, суспензионные, иммобилизованные клеточные культуры и культуры трансформированных корней представляют перспективные биотехнологические системы для получения ценных метаболитов.

3. Реакции гидроксилирования, гликозилирования, метилирования и окислительно-восстановительные превращения обеспечивают направленную модификацию структуры и свойств органических соединений.

4. Микробная ферментация растительных материалов позволяет преобразовывать углеводы и другие компоненты сырья в органические кислоты, спирты, ферменты и функциональные ингредиенты.

5. Комбинированные биотехнологии, объединяющие ферментативную обработку, клеточную биотрансформацию и микробную ферментацию, расширяют возможности комплексной переработки растительного сырья.

6. Биоконверсия побочных продуктов АПК способствует ресурсосбережению, сокращению отходов и развитию устойчивой циркулярной биоэкономики.

Основной вывод: Интеграция растительных клеточных и микробных биотехнологий открывает перспективы для эффективной переработки растительных материалов и получения биопродуктов с высокой добавленной стоимостью.

Контрольные вопросы

1. Основы биоконверсии растительного сырья

- Какие основные компоненты входят в состав клеточных стенок растений (целлюлоза, гемицеллюлоза, лигнин)? Как их химическая структура влияет на доступность для микроорганизмов?
- Какова роль предварительной обработки сырья (физической, химической) перед ферментацией?
- Что такое лигнолитический комплекс грибов? Каковы особенности ферментативного расщепления лигнина?

2. Микроорганизмы-деструкторы и ферменты

- Какие основные группы бактерий и грибов используются для ферментации растительных материалов?
- Как осуществляется гидролиз целлюлозы до моносахаров под действием ферментного комплекса целлюлаз (эндоглюканазы, экзоглюканазы, beta-глюкозидазы)?
- Чем отличаются процессы твердофазной и глубинной ферментации растительного сырья?

3. Технологические параметры

- Какие физико-химические параметры среды являются критическими для эффективной ферментации (температура, уровень pH, влажность субстрата, аэрация)?
- Как температурный оптимум (например, (35 – 38оС) для многих мезофильных культур) влияет на активность ферментов?
- В чем заключаются особенности ферментации растительного сырья для получения биотоплива (биоэтанола, биогаза) по сравнению с кормопроизводством?

4. Контроль и оценка эффективности

- Как оценивается глубина конверсии растительного материала (выход целевого продукта, степень утилизации сахаров)?
- Какие методы применяются для контроля динамики роста микроорганизмов и предотвращения развития нежелательной (патогенной) микрофлоры?
- Как осуществляется очистка и утилизация побочных продуктов/отходов ферментации?

Рекомендуемая литература

- 1. Wijerathna-Yapa A., Hiti-Bandaralage J., Pathirana R. (2025). Harnessing metabolites from plant cell tissue and organ culture for sustainable biotechnology. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 162, 55. https://doi.org/10.1007/s11240-025-03180-6.
- DOI
- 2. Khalafalla M.M. (2026). Plant cell suspension culture for plant secondary metabolite production: Current status, constraints, and future solutions. Polish Journal of Environmental Studies, 35(1), 1–14. https://doi.org/10.15244/pjoes/195703.
- DOI
- 3. Zhu Y. et al. (2024). Plant hairy roots: Induction, applications, limitations and prospects. Industrial Crops and Products, 119104. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2024.119104.
- sciencedirect.com
- 4. Nadar C.G. et al. (2024). Waste to protein: A systematic review of a century of advancement in microbial fermentation of agro-industrial byproducts. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 23(4), e13375. https://doi.org/10.1111/1541-4337.13375.
- PubMed
- 5. Perwez M., Al Asheh S. (2025). Valorization of agro-industrial waste through solid-state fermentation: Mini review. Biotechnology Reports, 45, e00873. https://doi.org/10.1016/j.btre.2024.e00873.
- PubMed
- 6. Segers B. et al. (2024). Lignocellulosic biomass valorisation: A review of feedstocks, processes and potential value chains and their implications for the decision-making process. RSC Sustainability, 2, 3730–3749. https://doi.org/10.1039/D4SU00342J