

Raporty



Biotechnologia klasyczna — aktualny stan badań w Polsce

Edward Galas

Ewa Kwapisz

Krystyna Siwińska

Instytut Biochemii Technicznej

Politechnika Łódzka

Łódź

1. Wprowadzenie

Klasyczne biotechnologie mają w Polsce stosunkowo długą i silną tradycję. Dotyczy to głównie takich technologii, jak produkcja alkoholu, drożdży piekarskich, wina, piwa, serów, fermentowanych napojów mlecznych, kwasu octowego, cytrynowego i mlekowego. Nieco później uruchomiono produkcję enzymów, aminokwasów, antybiotyków. Dziś obszar zainteresowań technologiami z udziałem drobnoustrojów jest znacznie szerszy, choć rozwój tego przemysłu uznać należy za wysoce niewystarczający. Konkretnie biotechnologie lub określone bioprodukty stanowią integralną część przemysłu spożywczego i rolnictwa, zaznaczając jednocześnie coraz aktywniej swą obecność w przemyśle chemicznym (pralnictwo, garbarstwo, papiernictwo), w medycynie i farmacji, w przemyśle włókienniczym, wydobywczym, energetycznym oraz w ochronie środowiska. Współ-

czesna biotechnologia, wyposażona w potężne narzędzie działania, jakim jest inżynieria genetyczna, stwarza coraz większe możliwości opracowania technologii z udziałem rekombinowanych szczepów, wytwarzających nowej jakości bioproduktu. Podobnie rozwój inżynierii bioprocessowej daje szansę nie tylko doskonalenia konkretnych procesów jednostkowych, ale i konstrukcji nowego typu bioreaktorów, wyposażonych w nowoczesną aparaturę kontrolno-pomiarową, zdolnych do funkcjonowania w formie sterowanego komputerowo układu.

Badania z zakresu biotechnologii klasycznej realizowane są w Polsce w niemal czterdziestu ośrodkach naukowo-badawczych: wyższych uczelniach (politechniki, uniwersytety, akademie rolniczo-techniczne i ekonomiczne), placówkach Polskiej Akademii Nauk i innych samodzielnych jednostkach naukowych. W badaniach tych uczestniczą również zakłady przemysłowe, współpracujące z zespołami badawczymi wyższych uczelni. Zakres badań prowadzonych w tych placówkach obejmuje zagadnienia składające się na tzw. „opracowanie technologii” wytwarzania określonych bioproduktów, jak również ich wykorzystania w poszczególnych gałęziach przemysłu.

Starając się rzetelnie przygotować to sprawozdanie skierowaliśmy pisma do placówek prowadzących badania z zakresu biotechnologii, z prośbą o dostarczenie aktualnej informacji na temat: charakteru prowadzonych badań, osiągnięć, perspektyw i problemów ujawniających się podczas ich realizacji. Przedstawiamy wykaz placówek badawczych i zakładów przemysłowych, z których nadesłano informacje o prowadzonych w nich badaniach, a na ich podstawie przygotowano niniejszy raport:

WARSZAWA

1. Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego (IBPR-S-Warszawa).
2. Warszawskie Zakłady Farmaceutyczne „Polfa” (Polfa Warszawa).
3. Instytut Biochemii i Biofizyki, Polska Akademia Nauk (IBB-PAN-Warszawa).
4. Zakład Biotechnologii Żywności, Akademia Rolnicza (SGGW) Warszawa (ZBŻ-AR-SGGW-Warszawa).

BYDGOSZCZ

5. Zakład Inżynierii Chemicznej i Bioprocessowej, Akademia Rolniczo-Techniczna (ZiChB-AR-T-Bydgoszcz).

GDAŃSK

6. Katedra Technologii i Chemii Tłuszczów, Politechnika Gdańska (KTiChT-PG-Gdańsk).

GLIWICE

7. Instytut Inżynierii i Technologii Wody, Ścieków i Odpadów, Politechnika Śląska (IIiTWSiO-PŚI-Gliwice).
8. Zakład Biotechnologii Środowiskowej, Politechnika Śląska (ZBŚ-PŚI-Gliwice).

JASŁO

9. Zakłady Przemysłu Owocowo-Warzywnego „Pektowin” (Pektowin-Jasło).

JELENIA GÓRA

10. Jeleniogórskie Zakłady Farmaceutyczne „Polfa” (Polfa-Jelenia Góra).

KATOWICE

11. Katedra Biochemii, Uniwersytet Śląski (KB-UŚI-Katowice).

KRAKÓW

12. Katedra Biotechnologii Żywności, Akademia Rolnicza (KBŻ-AR-Kraków).
13. Katedra Technologii Węglowodanów, Akademia Rolnicza (KTW-AR-Kraków).
14. Katedra Chłodnictwa i Inżynierii Przemysłu Spożywczego, Akademia Rolnicza (KChilPS-AR-Kraków).

KUTNO

15. Kutnowskie Zakłady Farmaceutyczne „Polfa” (Polfa-Kutno).

LUBLIN

16. Zakład Biochemii, UMCS (ZB-UMCS-Lublin).

17. Zakład Mikrobiologii Stosowanej, UMCS (ZMS-UMCS-Lublin).

18. Katedra Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego i Przechowalnictwa, Akademia Rolnicza (KTPR-SiP-AR-Lublin).

ŁÓDŹ

19. Samodzielna Pracownia Biosyntezy Środków Leczniczych, Akademia Medyczna (SPBSŁ-AM-Łódź).

20. Instytut Włókien Chemicznych (IWCh-Łódź).

21. Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Politechnika Łódzka (ITFiM-PŁ).

22. Instytut Chemicznej Technologii Żywności, Politechnika Łódzka (IChTŻ-PŁ).

23. Katedra Inżynierii Bioprosesowej, Politechnika Łódzka (KIB-PŁ).

24. Instytut Podstaw Chemii Żywności, Politechnika Łódzka (IPChŻ-PŁ).

25. Instytut Biochemii Technicznej, Politechnika Łódzka (IBT-PŁ).

OLSZTYN

26. Instytut Biotechnologii Żywności, Akademia Rolniczo-Techniczna (IBŻ-AR-T-Olsztyn).

POZNAŃ

27. Katedra Biochemii i Mikrobiologii, Akademia Ekonomiczna (KBiM-AE-Poznań).

28. Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Akademia Rolnicza (KBiMŻ-AR-Poznań).

29. Katedra Biochemii i Biotechnologii, Akademia Rolnicza (KBiB-AR-Poznań).

30. Instytut Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego, Akademia Rolnicza (ITŻPR-AR-Poznań).

31. Instytut Biologii Molekularnej i Biotechnologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza (IBMiB-UAM-Poznań).

32. Centralne Laboratorium Przemysłu Ziemniaczanego (CLPZ-Poznań).

33. Centralne Laboratorium Przemysłu Koncentratów Spożywczych (CLPKS-Poznań).

RACIBÓRZ

34. Cukrownia „Racibórz”; Wytwórnia Kwasu Cytrynowego w Raciborzu.

SKIERNIEWICE

35. Instytut Warzywnictwa (IW-Skierniewice).

SOSNOWIEC

36. Katedra Biochemii i Biofizyki, Śląska Akademia Medyczna (KBiB-Śl. AM-Sosnowiec).

SZCZECIN

36. Instytut Inżynierii Chemicznej i Chemii Fizycznej, Politechnika Szczecińska (IChiChF-PS-Szczecin).

WROCLAW

37. Instytut Biochemii, Uniwersytet Wrocławski (IB-UWr-Wrocław).

38. Instytut Mikrobiologii, Uniwersytet Wrocławski (IM-UWr-Wrocław).

39. Katedra Biotechnologii Żywności, Akademia Ekonomiczna (KBŻ-AE-Wrocław).

40. Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Akademia Rolnicza (KBiMŻ-AR-Wrocław).

41. Katedra Technologii Rolnej i Przechowalnictwa, Akademia Rolnicza (KTRiP-AR-Wrocław).

42. Instytut Technologii Organicznej i Tworzyw Sztucznych, Politechnika Wrocławska (ITOiTSz-PWr-Wrocław).

43. Instytut Chemii Organicznej, Biochemii i Biotechnologii, Politechnika Wrocławska (IChObiB-PWr-Wrocław).

W opracowaniu tym wykorzystano również dane pochodzące z „Raportu” z realizacji badań Centralnego Programu Badań Podstawowych — CPBP 04.11, koordynowanych przez IBT-PŁ w latach 1986-1990, pt. „Doskonalenie

procesów biotechnologicznych" („Raport” Politechnika Łódzka, Instytut Biochemii Technicznej, Łódź, 1990 r.).

Badania z zakresu biotechnologii, prowadzone w Polsce dotyczą (w największym uproszczeniu), takich zagadnień jak:

- poszukiwania i doskonalenie cech produkcyjnych mikroorganizmów przemysłowych,
- badania nad fizjologią drobnoustrojów przemysłowych,
- optymalizacja procesów biosyntezy,
- zagadnienia inżynieryjno-aparaturowe w biotechnologii,
- procesy z wykorzystaniem immobilizowanych komórek lub enzymów,
- procesy biokonwersji i biotransformacji,
- preparatyka enzymów o znaczeniu biotechnologicznym,
- optymalizacja metod oczyszczania i standaryzacji bioproduktów,
- badania związane z wykorzystaniem bioproduktów w różnych dziedzinach,
- opracowanie nowych metod analitycznych.

Oddzielne rozdziały poświęcono:

- współpracy jednostek badawczych z przemysłem,
- omówieniu najważniejszych osiągnięć badawczych jednostek realizujących prace z zakresu biotechnologii.

2. Poszukiwania, doskonalenie cech produkcyjnych mikroorganizmów przemysłowych, fizjologia drobnoustrojów przemysłowych

Cel pozyskania drobnoustrojów o zwiększonej zdolności do biosyntezy określonych metabolitów lub wykazujących cechy szczególnie ważne dla biotechnologii, realizowany jest w stosunkowo szerokim zakresie, zarówno jeżeli chodzi o liczbę doskonalonych gatunków, jak i kierunki doskonalenia szczepów. W badaniach związanych z tą problematyką, wykorzystuje się zarówno metody selekcji, adaptacji, racjonalnego skryningu mikroorganizmów, fuzję protoplastów, jak również techniki inżynierii genetycznej*.

Z informacji uzyskanych od naszych respondentów wynika, że badania nad zachowaniem i doskonaleniem biotechnologicznych cech drobnoustrojów przemysłowych realizowane są najszerzej w Instytucie Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie, w Instytucie Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Politechniki Łódzkiej, w Instytucie Biochemii Technicznej Politechniki Łódzkiej oraz w Katedrze Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Akademii Rolniczej we Wrocławiu. W dwóch pierwszych spośród wymienionych instytutów prowadzone są kolekcje drobnoustrojów, w których przechowywanych jest kilka tysięcy szczepów o znaczeniu przemysłowym. Optymalizacją warunków prze-

* Badania dotyczące efektów rekombinacji DNA *in vitro* nie będą w tej części omówione.

chowowania drobnoustrojów w stanie głębokiego zamrożenia zajmuje się również Instytut Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego Akademii Rolniczej w Poznaniu.

Do najważniejszych osiągnięć dotyczących doskonalenia drobnoustrojów przemysłowych zaliczyć należy:

- Uzyskanie w drodze protoplastyzacji i hybrydyzacji osmoofilnych drożdży piekarskich, poliploidalnych mieszańców o znacznie wyższej wydajności biomasy w podłożach melasowych (wyniki zweryfikowano w skali wielkolaboratoryjnej i przemysłowej w drożdżowniach w Wołczynie i Maszewie; umowy wdrożeniowe — chwilowo wstrzymane) (ITFiM-PŁ).
- Otrzymanie stabilnych hybrydów *Schwanniomyces occidentalis* — *Saccharomyces cerevisiae* i *S. occidentalis* — *Kluyveromyces marxianus*, charakteryzujących się podwyższoną aktywnością amylolityczną i celulolityczną. Celem jest użycie hybrydów do produkcji biomasy drożdży z wykorzystaniem odpadów skrobiowych — (ITFiM-PŁ).
- Ulepszanie drożdży gorzelnicznych *S. cerevisiae* metodami adaptacji do fermentacji brzeczek melasowych o wysokim stężeniu suchej masy niecukrowej. Aktualnie poszukuje się szczepu partnerskiego dla *S. cerevisiae* do rekombinacji genetycznej, w celu zwiększenia uzdolnień fermentacyjnych szczepu i poprawy oporności na niekorzystne cechy środowiska (KTRiP-AR-Wrocław).
- Wyselekcjonowanie szczepów flokulujących drożdży w celu wykorzystania w usprawnionym procesie fermentacji etanolowej (KIB-PŁ).
- Mutagenizacja szczepów grzybów strzępkowych pod kątem zwiększenia produkcji enzymów rozkładających polimery ligninocelulozowe (ZB-UMCS-Lublin).
- Mutagenizacja *A. niger* w kierunku zwiększenia aktywności oksydazy glukozowej (ZMS-UMCS-Lublin).
- Mutagenizacja szczepu *Penicillium notatum* wydzielającego pozakomórkową dekstranazę (2-krotne zwiększenie aktywności enzymu) (ZMS-UMCS-Lublin).
- Optymalizacja warunków przechowywania glukogennych szczepów rodzaju *Aspergillus* sp. (KBŻ-AR-Kraków).
- Doskonalenie szczepów *A. niger* o wysokich uzdolnieniach do biosyntezy kwasu cytrynowego, badania użyteczności technologicznej szczepów o zwiększonej oporności na związki toksyczne melasy (ITFiM-PŁ oraz KBŻ-AE-Wrocław).
- Mutagenizacja grzyba *Tolyposcladium inflantum* w celu zwiększenia wydajności biosyntezy cyklosporyny (SPBŚL-AM-Łódź).
- Skrining mikroorganizmów o wysokiej aktywności oksydazy ryfamycynowej, odpowiedzialnej za konwersję ryfamycyny B do S (KBiB Śl. AM-Sosnowiec).
- Selekcja i doskonalenie szczepów wytwarzających lipazy (otrzymano szczep *Rhizopus nigricans* o aktywności lipolitycznej, porównywalnej z aktywnością handlowych preparatów (IBT-PŁ).

- Uzyskanie w wyniku mutagenizacji i selekcji w obecności wybranych antybiotyków mutantów *Bacillus licheniformis* produkujących z wysoką wydajnością termostabilną α -amylazę (IBT-PŁ).
- Selekcja w kierunku uzyskania asporogennych mutantów *B. subtilis* wydzielających z wysoką wydajnością proteiny (IBT-PŁ).
- Wyselekcjonowanie i ulepszenie szczepów bakterii *Oerskovia xanthioneolytica* i promieniowców *Streptomyces* sp., wytwarzających enzymy lityczne, które mogą być wykorzystane do protoplastyzacji drożdży (IBT-PŁ).
- Opracowanie kryteriów doboru bakterii mlekowych do szczepionek mleczarskich oraz warunków produkcji biomasy metodą hodowli ciągłej. Wyniki badań wstępnie wdrożone w Wytwórni Szczepionek „Biolacta” w Olsztynie (ITFiM-PŁ).
- Badania kinetyki zamrażania i rozmrażania bakterii fermentacji mlekowej, ustalające wpływ parametrów zabiegu na żywotność i aktywność przemysłowych szczepów bakterii mlekowych (ITFiM-PŁ).
- Uzyskanie w wyniku skriningu interesujących szczepów bakterii propionowych do produkcji kwasu propionowego i witaminy B₁₂ (badano metabolizm szczepów i właściwości technologiczne) (KBiMŻ-AR-Poznań).
- Poszukiwanie szczepów *Bacillus thuringiensis* o nowej specyficzności owadobójczej w celu biologicznej kontroli liczebności owadów szkodliwych dla człowieka (IM-UWr-Wrocław).
- Izolowanie i charakterystyka mikroorganizmów (głównie bakterii rodzaju *Thiobacillus*) przystosowanych do procesów ługowania siarki z węgla oraz metali z rud i odpadów (KBiB-Śl. AM-Sosnowiec).
- Izolowanie, selekcja i charakterystyka mikroorganizmów (głównie bakterii *Pseudomonas* i *Corynebacterium*) wykazujących zdolność do degradacji węglowodorów ropy naftowej. Badania prowadzone są pod kątem przygotowania biopreparatów efektywnie degradujących substancje ropopochodne w ściekach rafineryjnych, wodach gruntowych, zbiornikach wodnych (IBT-PŁ).
- Mikrobiologiczna denitryfikacja soku marchwiowego i buraczanego — selekcja drobnoustrojów, badania szlaków metabolicznych (KBiMŻ-AR-Poznań).

Badania dotyczące fizjologii drobnoustrojów przemysłowych, prowadzone równoległe z pracami nad selekcją drobnoustrojów przemysłowych koncentrują się wokół następujących zagadnień:

- Ocena fizjologiczno-biochemicznych i probiotycznych cech bakterii *Lactobacillus acidophilus*, hamujących rozwój bakterii z rodzaju *Enterobacteriaceae* (wykorzystanie — w opracowaniu technologii produkcji preparatów paszowych i żywieniowych) (ITFiM-PŁ).
- Badania nad aktywnością skojarzonych populacji bakterii mlekowych i drożdży piekarskich (ITFiM-PŁ).
- Określanie cech biotechnologicznych rekombinantów drożdży piekarskich i gorzelniczych (IBPR-S-Warszawa).
- Badanie dróg biosyntezy aminokwasów (IBT-PŁ, SPBŚL-AM-Łódź).
- Badania metabolizmu mutantów drożdży, w których mutacji uległy geny

głównej poryny mitochondrialnej, badanie poryn funkcjonujących zastępczo (IBMiB-UAM-Poznań).

- Charakterystyka fizjologiczno-biochemiczna bakterii *Lactococcus lactis subsp. lactis var diacetilactis* 239, zawierających plazmidy (ITFiM-PŁ).
- Śledzenie aktywności wybranych enzymów grzybowych włączonych w rozkład ligniny i celulozy. (Zespół Zakładu Biochemii UMCS w Lublinie ma poważne osiągnięcia w zakresie poszukiwania dróg enzymatycznej transformacji kompleksu ligninocelulozowego).
- Genetyka i fizjologia mutantów cyklu Krebsa w aspekcie zarówno poznawczym, jak i wykorzystania wydzielanych przez te mutanty kwasów dwu- i trójkarboksylowych (IM-UWr-Wrocław).
- Badania wpływu aktywności wody na fizjologię drobnoustrojów przemysłowych (wpływ szoku osmotycznego na sekrecję metabolitów, zmiany termostabilności komórek drożdży w zależności od poziomu zewnętrznego ciśnienia osmotycznego) (KBiMŻ-AR-Poznań).
- Wpływ modyfikacji błon plazmatycznych na właściwości technologiczne drobnoustrojów (zwiększona termostabilność i tolerancja na etanol drożdży o zmodyfikowanej frakcji lipidowej błony komórkowej) (KBiMŻ-AR-Poznań).

3. Optymalizacja procesów biosyntezy

Hodowle drobnoustrojów przemysłowych to złożony proces, o efektach którego decyduje nie tylko potencjał metaboliczny populacji, ale i warunki środowiskowe, w których ta hodowla jest prowadzona. Określenie tych warunków jest jednym z podstawowych celów badań nad optymalizacją procesów mikrobiologicznej biosyntezy. Efektywność tych badań jest w dużym stopniu uzależniona od rozwoju szybkich metod analitycznych i dysponowania odpowiednimi czujnikami pomiarowymi, umożliwiającymi ciągły pomiar i regulację parametrów fizykochemicznych procesu, takich jak: temperatura, pH, obroty mieszadła, stężenie O_2 i CO_2 w podłożu oraz gazach wlotowym i wylotowym, potencjał oksydo-redukcyjny, stężenie substratu, bądź produktu biosyntezy, stężenie wybranych jonów. Badania ułatwia także możliwość automatycznego dozowania pożywek i gaszenia piany.

Prowadzone badania w polskich placówkach naukowych z zakresu optymalizacji procesów biosyntezy dotyczą zarówno technologii o najdłuższych tradycjach, jak drożdźownictwo, gorzelnictwo, winiarstwo, piwowarstwo, jak i nowszych, np. produkcja białka paszowego, wytwarzanie kultur starterowych, biosyntezy aminokwasów, witamin, kwasów organicznych, enzymów, regulatorów wzrostu, środków aromatyzujących. Badania dla drożdźownictwa prowadzone są m.in. w: Instytucie Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Politechniki Łódzkiej; Katedrze Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego i Przechowywania Akademii Rolniczej w Lublinie; Katedrze Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Akademii Rolniczej we Wrocławiu; Instytucie Bio-

technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie. Na podstawie badań prowadzonych w Instytucie Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Politechniki Łódzkiej wdrożone zostały technologie produkcji osmofilnych triploidalnych drożdży *Saccharomyces cerevisiae*, w drożdżowniach w Wołczynie i Maszewie. W Instytucie tym opracowano również mikroprocesorowy system kontroli i regulacji wzrostu drożdży piekarskich ze szczególnym uwzględnieniem możliwości optymalizowania zawartości trehalozy w komórkach drożdży zachowujących aktywność po wysuszeniu. Prowadzone prace w Katedrze Biotechnologii Żywności Akademii Rolniczej we Wrocławiu nad doskonaleniem procesu hodowli drożdży piekarskich i paszowych, a w szczególności badania nad optymalizacją warunków natlenienia, doprowadziły do opracowania automatycznej metody regulacji dozowania źródeł węgla w zależności od zmniejszenia tlenu rozpuszczonego w brzeczce. Wydajność procesu została zwiększona o 10%, przy jednoczesnym zmniejszeniu zużycia energii o około 50%. W przypadku drożdży paszowych, na uwagę zasługuje opracowanie metody hodowli drożdży na odpadach przemysłu tłuszczowego (np. ziemi bielącej), jako podstawowego surowca węglowego. Produkcja drożdży na cele paszowe z wykorzystaniem produktów odpadowych rolnictwa, w tym hydrolizatów roślinnych jest przedmiotem zainteresowania zespołów badawczych w Katedrze Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Akademii Rolniczej we Wrocławiu. Prowadzone są tam próby optymalizacji warunków hodowli, badania kinetyki procesu zarówno w systemie okresowym, jak i ciągłym. W Katedrze Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego i Przechowalnictwa Akademii Rolniczej w Lublinie prowadzone są natomiast intensywne badania nad produkcją drożdży o podwyższonej zawartości selenu. Badania te (skala półtechniczna) realizowane są we współpracy z Zakładami Farmaceutycznymi.

Prace związane z ulepszaniem procesu produkcji etanolu koncentrują się wokół takich zagadnień, jak: wykorzystanie tanich surowców do biosyntezy, optymalizacja procesu fermentacji, poszukiwania nowych rozwiązań aparaturowych oraz poprawy jakości produktu. Próby prowadzenia fermentacji etanolowej w podłożach zawierających odpadowe surowce roślinne podejmowane są w IBPR-S w Warszawie, KTPR-SiP-AR w Lublinie, ITFiM-PŁ, KTRiP-AR we Wrocławiu, z wykorzystaniem surowców ligninocelulozowych w IBT-PŁ. Wpływ dodatku preparatów enzymatycznych na wydajność etanolu z surowców skrobiowych badany jest w ITFiM-PŁ oraz w KBŻ-AR-Kraków. Technologia produkcji etanolu ze zbóż, ukierunkowana na otrzymanie wywaru o podwyższonej suchej masie i zastosowaniu wielokrotnej recykulacji opracowywana jest w IBPR-S w Warszawie. Alternatywne metody w technologii produkcji etanolu są weryfikowane w ITŻPR-AR-Poznań oraz w ITFiM-PŁ.

Wysokoproduktywny system prowadzenia ciągłej fermentacji etanolowej z zastosowaniem drożdży flokujących opracowany został w Katedrze Inżynierii Bioprocusowej Politechniki Łódzkiej. Uzyskanie wysokich wydajności etanolu wynikało z możliwości utrzymania w bioreaktorze bardzo wysokiego stężenia komórek. Utrzymanie stężenia drożdży w fermentorze na poziomie 50 kg/m^3 pozwalało na uzyskanie wydajności etanolu — 20 kg/m^3 .

W Katedrze Technologii Rolnej i Przechowalnictwa Akademii Rolniczej we Wrocławiu opracowano metodę prowadzenia fermentacji etanolowej pod obniżonym ciśnieniem. W Instytucie Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Politechniki Łódzkiej uzyskano poprawę jakości spirytusu rektyfikowanego dzięki modyfikacji dotychczasowego sposobu obróbki spirytusu przed procesem rektyfikacji. Opracowana w tym Instytucie technologia produkcji napoju Rye-Drink, z wykorzystaniem enzymatycznych hydrolizatów z żyta jest przedmiotem rozmów wdrożeniowych w celu zastosowania ich w przemyśle.

Prace związane z postępowaniem w przemyśle winiarskim realizowane są m.in. w ITFiM-PŁ i IBPR-S w Warszawie. W pierwszym z wymienionych Instytutów do odkwaszania moszczów wykorzystano drożdże rozszczepkowe (planowane wdrożenia). Opracowano technologie produkcji win z wykorzystaniem takich surowców, jak aronia czy jarzębina. Przygotowano również receptury napojów koktajlowych na bazie krajowych win owocowych. Na uwagę zasługują modyfikacje technologii produkcji mader i portweinów jabłkowych. Problem powstawania metanolu w winach wskutek stosowania enzymów pektynolitycznych (poligalakturonazy i pektynoestery) rozważany jest w Katedrze Biotechnologii Żywności Akademii Rolniczej w Krakowie.

W Instytucie Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Politechniki Łódzkiej oraz w Instytucie Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie prowadzone są również prace na rzecz piwowarstwa. Technologię produkcji piwa bezalkoholowego opracowano w ITFiM-PŁ. Opracowanie technologii produkcji piwa metodą jednofazowej fermentacji, problemy odpadów w browarze, oszczędności paliwa i energii są przedmiotem zainteresowania w Instytucie Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie.

Badania dotyczące produkcji białka mikrobiologicznego (grzybowego) z wykorzystaniem produktów odpadowych przemysłu rolno-spożywczego (w tym odpadów przemysłu tłuszczowego) realizowane są w ITFiM-PŁ oraz w IBŻ-AR-T w Olsztynie. Odpady ligninocelulozowe dla produkcji SCP próbuje się wykorzystywać w IBT-PŁ i KBiMŻ-AR w Poznaniu. W ośrodku poznańskim prowadzona jest produkcja grzybninowego białka paszowego w bioreaktorze ze stałym złożem, a równolegle realizowane są badania nad wpływem aktywności wody na wzrost grzybni. Obejmują one również mikrobiologiczną obróbkę drewna w kontrolowanych hodowlach grzybów rozkładających hemicelulozy i ligninę w stałym złożu.

Zagadnienia biosyntezy aminokwasów prowadzone są w IBT-PŁ pod kątem biosyntezy lizyny i kwasu glutaminowego przez wolne i unieruchomione komórki *Corynebacterium glutamicum* oraz akumulacji tiaminy przez wolne, imobilizowane komórki *S. cerevisiae* w warunkach fermentacji etanolowej.

Badania nad otrzymywaniem kwasu glutaminowego przy użyciu *Micrococcus glutamicus* ATTC nr 13058 prowadzone są w Centralnym Laboratorium Przemysłu Koncentratów Spożywczych w Poznaniu. Problematyką biosyntezy aminokwasów zajmuje się również Samodzielna Pracownia Biosyntezy Środków Leczniczych Akademii Medycznej w Łodzi.

Badania dotyczące biosyntezy karotenu z grzybów strzępkowych *Blakeslea*

trispora wykonane zostały w CLPKS w Poznaniu. Są one zastrzeżone dziewięcioma patentami.

W Polsce prowadzone są bardzo interesujące i ważne badania dotyczące opracowania składu i formy kultur starterowych drobnoustrojów dla piekarnictwa i przemysłu mleczarskiego. W ramach kompleksowych badań nad tym zagadnieniem w ITFiM Politechniki Łódzkiej opracowano skład kultur starterowych bakterii mlekowych i drożdży, ustalono warunki ich przechowywania oraz dobrano parametry ich wykorzystania w produkcji uszlachetnionego pieczywa bezglutenowego — przeznaczonego dla dzieci chorych na celiakię. Użytko również trwałą postać szczepionki do produkcji pieczywa spełniającego warunki tzw. zdrowej żywności. Równoległe z badaniami przygotowano program komputerowy symulujący przemysłową produkcję szczepionki.

Przygotowanie kultur starterowych do kwaszenia warzyw i pasz jest przedmiotem zainteresowania w Instytucie Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie. W Katedrze Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Akademii Rolniczej w Poznaniu opracowuje się natomiast warunki przygotowania kultur starterowych oraz produkcji spor grzybowych dla celów przemysłu spożywczego i ochrony środowiska. Skład szczepionki do produkcji fermentowanego soku z buraków ćwikłowych opracowany został w IBŻ-AR-T w Olsztynie. Produkcja kultur starterowych dla przemysłu mleczarskiego w formie komórek immobilizowanych opracowywana jest w Katedrze Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Akademii Rolniczej w Poznaniu, w warunkach hodowli ciągłej — w Instytucie Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Politechniki Łódzkiej.

Produkcja polisacharydów — biosynteza celulozy, alginianów, chitozanu, polihydroksymaślanu, w aspekcie powiązania parametrów procesu ze strukturą nadcząsteczkową i właściwościami produktów, badana jest w Instytucie Włókien Chemicznych w Łodzi oraz w Instytucie Biochemii Technicznej Politechniki Łódzkiej. W wyniku enzymatycznej transformacji celulozy drewna uzyskano rozpuszczalną celulozę, z roztworów której można otrzymać folię celulozową i włókna chemiczne, charakteryzujące się zbliżonymi parametrami do właściwości folii i włókien wiskozowych. Zastrzeżenie patentowe dotyczące produkcji rozpuszczalnej celulozy zostało zgłoszone przez zespół Instytutu Włókien Chemicznych i Instytut Biochemii Technicznej Politechniki Łódzkiej.

Próby produkcji bakteryjnych błon celulozowych wykazujących szczególne właściwości mechaniczne prowadzone są w IBT-PŁ. Specyfika błon (zakres przepuszczalności, nietoksyczność, duża wytrzymałość mechaniczna) rysuje perspektywy ich szerokiego zastosowania. Dekstran z udziałem *Leuconostoc mesenteroides* produkowany jest w Kutnowskich Zakładach Farmaceutycznych „Polfa”. Polimer ten stosowany jest do produkcji płynów infuzyjnych krwiozastępczych, syntezy dekstranomeru i kompleksów z żelazem oraz do produkcji kosmetyków i preparatów diagnostycznych.

W Instytucie Biochemii Technicznej Politechniki Łódzkiej, dzięki udoskonaleniu szczepu *Pullularia pullulans*, uzyskano znaczną poprawę wydajności i jakości pululanu (produkt pozbawiony pigmentu). Opracowano technologie

produkcji tego polisacharydu do skali mikrotechnicznej. Próby biosyntezy pululanu podjęto również w Katedrze Technologii Rolnej i Przechowalnictwa Akademii Rolniczej we Wrocławiu oraz w Zakładzie Biotechnologii Żywności w Akademii Rolniczej w Warszawie, gdzie do syntezy wykorzystano szczep *Aureobasidium pullulans*.

W Centralnym Laboratorium Przemysłu Koncentratów Spożywczych w Poznaniu w latach osiemdziesiątych prowadzono badania dotyczące biosyntezy ksantanu za pomocą bakterii *Xanthomonas campestris* NRRL-1459.

Badania nad biosyntezą kwasów organicznych koncentrują się wokół produkcji, takich kwasów jak: octowy, mlekowy, cytrynowy, glukonowy i propionowy. Technologia produkcji octu spirytusowego o podwyższonej mocy, obejmująca zastosowanie wysokosprawnego fermentora opracowana została w Instytucie Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie. Poprawę efektywności procesu spowodowało zastosowanie nowej pożywki, zwiększającej zdolność produkcyjną fermentorów octowych. Na podstawie przeprowadzonych badań w tym Instytucie uruchomiono doświadczalną produkcję kwasu mlekowego o podwyższonej czystości. Badania nad intensyfikacją fermentacji mlekowej na podłożach cukrowych oraz próby zastosowania filtracji membranowej w procesie przygotowania pożywki i oczyszczania produktu prowadzone są w Katedrze Biotechnologii Żywności Akademii Ekonomicznej we Wrocławiu. W Katedrze Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Akademii Rolniczej w Poznaniu opracowywana jest technologia produkcji kwasu mlekowego przy użyciu *Lactobacillus delbrückii* metodą ciągłą z zastosowaniem wysokiej gęstości komórek. System obejmuje separację za pomocą mikrofiltracji oraz zastosowania membranowych metod oczyszczania kwasu mlekowego.

Badania dotyczące biosyntezy kwasu cytrynowego prowadzone są głównie w dwóch miastach — we Wrocławiu i w Łodzi. W Katedrze Biotechnologii Żywności Akademii Ekonomicznej we Wrocławiu do najważniejszych pozycji dorobku w tym zakresie należy wyselekcjonowanie wysokowydajnych szczepów *Aspergillus niger*, opracowanie składu podłoży fermentacyjnych z wykorzystaniem sacharozy, skrobi ziemniaczanej i kukurydzianej, melasy buraczanej i trzcinowej oraz produktów odpadowych: „hydrołu” glukozowego, tapioki, kwasów tłuszczowych. Wdrożenia objęły kilka zakładów w kraju (Racibórz, Wałcz, Kraków). Dla takich surowców, jak sacharoza lub skrobia opracowano praktycznie bezodpadową i bezściekową metodę oczyszczania produktu (współpraca z Wytwórnią Kwasu Cytrynowego w Raciborzu). Badania nad oddziaływaniem toksycznych związków melasy na wzrost i aktywność kwasotwórczą *Aspergillus niger* prowadzone są w Instytucie Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Politechniki Łódzkiej. Inżynierskie aspekty produkcji kwasu cytrynowego w fermentorze wieżowym typu *airlift* badane są w Katedrze Inżynierii Bioprocessowej Politechniki Łódzkiej. Próby biosyntezy kwasu cytrynowego z wykorzystaniem drożdży *Yarrowia lipolytica* prowadzone są w Katedrze Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Akademii Rolniczej we Wrocławiu.

Technologia produkcji kwasu glukonowego i jego soli sodowej opracowana

została w Centralnym Laboratorium Przemysłu Ziemniaczanego w Poznaniu (współpraca z „Cytrokwasem” w Zgierzu).

Biosynteza kwasu propionowego i witaminy B₁₂, w systemie tradycyjnym oraz z użyciem komórek immobilizowanych, zajmują się zespoły naukowe w Katedrze Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Akademii Rolniczej w Poznaniu. Badania dotyczą doboru pożywek do hodowli, metabolizmu, kinetyki procesu, wyboru nośnika do immobilizacji, opracowania systemu hodowli ciągłej.

W szerokim zakresie prowadzone są w różnych ośrodkach badania dotyczące biosyntezy i możliwości stosowania enzymów. Obejmują one następujące enzymy o znaczeniu przemysłowym: amylazy, pululanazy, dekstranazy, celulazy, proteinazy, lipazy, enzymy lityczne, oksydazy glukozy itp.

Technologie produkcji α -amylaz o różnych właściwościach (zakresie pH działania, termostabilności) opracowywane są w Instytucie Biochemii Technicznej Politechniki Łódzkiej i dotyczą one takich zagadnień jak:

1. Technologia produkcji α -amylazy *Bacillus subtilis*. Efektem badań jest pierwsze w Polsce wdrożenie w skali przemysłowej procesu produkcji enzymów metodą hodowli wgłębnej. Wdrożenie miało miejsce w ZPO-W w Jaśle. Preparat o nazwie „Amylogal” spełnia wymogi stawiane przez użytkowników i skutecznie zastępuje odpowiedniki firm zachodnich (m.in. „Novo Nordisk” — Dania). Aktualnie Zakład rozbudowuje swoje moce produkcyjne, planując zwiększenie produkcji „Amylogalu”. Technologia wytwarzania preparatu chrotona jest czterema patentami; dwa dodatkowe, dotyczą stosowania preparatu w przemyśle.

2. Technologia produkcji termostabilnej α -amylazy *Bacillus licheniformis* (skala ćwierćtechniczna). Aktualne badania nad biosyntezą tego enzymu dotyczą opracowania technologii produkcji w stałym złożu. Zastosowanie tej metody pozwala na znaczne uproszczenie i obniżenie kosztów wytwarzania preparatu. Technologie produkcji tego enzymu, zarówno w podłożu ciekłym jak i stałym, zastrzeżone są patentami. Prowadzone są również próby hodowli *Bacillus licheniformis* metodą ciągłą.

3. Badania nad biosyntezą kwasostabilnej α -amylazy *A. niger*. Opracowano warunki biosyntezy w podłożach płynnych i stałych. Enzym wykazuje również aktywność glukoamylazy, stwarzając perspektywy zastosowania do klarowania soków owocowych.

W IBT-PŁ trwają również badania nad opracowaniem technologii produkcji pululanazy *Aerobacter aerogenes*. Enzym ten przyspiesza proces scukrzania skrobi i jest niezbędny w otrzymywaniu hydrolizatów skrobiowych o określonym, pożądanym składzie.

Na uwagę zasługują prace związane z opracowaniem technologii produkcji dekstranazy *Penicillium funiculosum* — enzymu wykorzystywanego do produkcji dekstranu klinicznego, jak również do hydrolizy dekstranu, tworzącego się w przemarzniętych burakach cukrowych, i utrudniającego filtrację soku i krystalizację sacharozy (IBT-PŁ), (współpraca z przemysłem fermentacyjnym i cukrowniczym). Próby biosyntezy dekstranazy z użyciem szczepów *Penicillium notatum* podjęte zostały ostatnio w Zakładzie Mikrobiologii Stosowanej

UMCS w Lublinie.

W kilku ośrodkach (KBiMŻ- AR-Wrocław, IBT-PŁ i KTPR-SiP-AR Lublin) prowadzone są prace związane z enzymatycznym rozkładem substancji celulozowych. W pierwszej z wymienionych instytucji badania dotyczą biosyntezy celulaz, ksylanaz, poligalakturonaz oraz enzymów litycznych, wydzielanych przez *Trichoderma viride*. Kompleksowe badania nad optymalizacją procesu gromadzenia enzymów celulolitycznych *A. niger*, w obecności surowców ligninocelulozowych, prowadzone są w Instytucie Biochemii Technicznej Politechniki Łódzkiej. W ośrodku lubelskim próby rozkładu surowców ligninocelulozowych prowadzone są z udziałem kompleksu enzymów *Trichoderma reesei*.

Biosynteza enzymów litycznych przez szczepy z rodzaju *Streptomyces* jest przedmiotem zainteresowania w Instytucie Biochemii Technicznej Politechniki Łódzkiej. Wybrane szczepy produkują kompleks hydrolaz aktywnych wobec żywych komórek drożdży. Enzymy te mogą być stosowane do otrzymywania ekstraktu drożdżowego oraz protoplastów drożdży. Obecnie prowadzone są również prace nad kompleksem enzymów litycznych, wydzielanych przez *Oerskovia xanthioneolitica*, aktywnych wobec komórek drożdży i grzybów strzępkowych (IBT-PŁ).

Badania nad biosyntezą oksydazy glukozy są intensywnie prowadzone w ZMS-UMCS w Lublinie. Natomiast zagadnienie otrzymywania preparatów enzymów pektynolitycznych z odpadowej grzybni *A. niger* po produkcji kwasu cytrynowego są przedmiotem prac realizowanych w IBT-PŁ oraz w KBiMŻ-AE we Wrocławiu. Preparaty te mogą znaleźć zastosowanie do depektynizacji soków owocowych i innych surowców owocowo-warzywnych. Modyfikacją technologii grzybowych preparatów pektynolitycznych (i amylolitycznych) zajmują się zespoły naukowe w Instytucie Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie we współpracy z ZPO-W „Pektowin” w Jaśle.

Szeroko prowadzone są badania dotyczące biosyntezy proteinaz bakteryjnych. W IBT-PŁ zaawansowane są badania nad wdrożeniem technologii produkcji serynowej proteinazy *Bacillus subtilis*, zwanej subtilizyną, która jest wykorzystywana przede wszystkim jako komponent enzymatycznych proszków piorących. Opracowaną technologię pozytywnie przetestowano w skali półtechnicznej w TZF „Polfa”-Tarchomin. Preparat o nazwie „Protogal S” nie ustępuje zachodnim odpowiednikom. Preparat immobilizowanej proteinazy może być stosowany w środowisku względnie bezwodnym do rewersji reakcji hydrolizy wiązania estrowego (np. do otrzymywania środków zapachowych). Technologia produkcji „Protogalu S” chroniona jest trzynastoma patentami.

Nad otrzymywaniem, charakterystyką i możliwościami aplikacji aspartylowej proteinazy *Penicillium camemberti* pracuje się w Instytucie Biochemii Uniwersytetu Wrocławskiego. Dzięki podpuszczkopodobnym właściwościom proteinazę tę wykorzystuje się do produkcji serów twardych z mleka krowiego oraz serów miękkich z mleka koziego.

Biosynteza proteinaz współdziałających w degradacji białek włókienkowych, zwłaszcza keratyn, wydzielanych przez szczepy *Streptomyces fradiae*, jest przedmiotem badań w Instytucie Biochemii Technicznej Politechniki Łódzkiej.

dzkiej. Technologię produkcji kwaśnej proteazy grzybniowej o nazwie „Proteopol” opracowano w Instytucie Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie. Preparat produkowany jest w ZPO-W w Jaśle.

Interesujące badania, dotyczące biosyntezy i wykorzystania lipazy *Mucojavanicus* prowadzone są w IBT-PŁ. Enzym katalizuje syntezę estrów kwasów karboksylowych w środowisku rozpuszczalników organicznych.

Przy omawianiu zagadnień produkcji preparatów enzymatycznych na szczególne wyróżnienie zasługuje placówka przemysłowa ZPO-W „Pektowin” w Jaśle, która od trzydziestu lat intensywnie wdraża (prowadząc również intensywnie badania własne) krajowe technologie produkcji preparatów enzymatycznych metodą hodowli powierzchniowej w „cienkiej” i „grubej warstwie” oraz metodą wglębną w fermentorach. W Zakładzie produkowane są enzymy: α -amylazy bakteryjne i pleśniowe, glukozamylazy, a także enzymy pektynolityczne i proteolityczne. Opracowane tam linie technologiczne do produkcji grzybowych preparatów w grubej warstwie są nowoczesnym i efektywnym rozwiązaniem technicznym, unikatowym w Europie. Zakład wytrwale i z powodzeniem opiera się na podaży enzymatycznych preparatów zagranicznych.

Zagadnienia biosyntezy regulatorów wzrostu roślin przez bakterie *Azospirillum* i *Pseudomonas* badane są w IKBiMŻ-AR-Wrocław. W Kutnowskich Zakładach Farmaceutycznych „Polfa” produkowany jest kwas giberelinowy z *Gibberella fujikuroi*. Zgłaszane są tu problemy wysokich kosztów produkcji i niskich aktywności szczepu produkcyjnego.

Badania dotyczące sporogenezy grzybów entomopatogennych w hodowlach na podłożach stałych pod kątem produkcji bioinsektycydów przeprowadzane są w Katedrze Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Akademii Rolniczej w Poznaniu.

4. Aparatura i urządzenia

Efektywność badań prowadzonych nad optymalizacją procesów biosyntezy jest w dużym stopniu uzależniona od wyposażenia w odpowiednią aparaturę i urządzenia kontrolno-pomiarowe. W Polsce, niestety, w ogromnej mierze bazuje się na sprzęcie importowanym. Warte są zatem odnotowania osiągnięcia polskich biotechnologów w tym zakresie.

Tak na przykład w Katedrze Biotechnologii Żywności Akademii Ekonomicznej we Wrocławiu produkowana jest aparatura naukowo-badawcza (w tym oksystry, pH-stry, urządzenia odpieniające, bioreaktory laboratoryjne z pełnym oprzyrządowaniem i sterowaniem komputerowym typu Biomer). W Instytucie Chemicznej Technologii Żywności Politechniki Łódzkiej zbudowano stanowisko doświadczalne umożliwiające (po raz pierwszy w Polsce) obróbkę cieplną podłoży w kapilarach. W Katedrze Biochemii i Mikrobiologii Akademii Rolniczej w Poznaniu opracowano technologię otrzymywania biocujników do oznaczania mono- i disacharydów. W Zakładzie Biotechnologii Środowiskowej Politechniki Śląskiej w Gliwicach wykonano aparat do automatycznego po-

miaru aktywności oddechowej mikroorganizmów w celu wykorzystania go do oznaczania stopnia obciążenia ścieków, jak również opracowano testy enzymatyczne do oznaczania toksyczności i intensywności oczyszczania ścieków. Opracowania te mają szczególną wartość w aspekcie ochrony środowiska.

Przy udziale pracowników Katedry Biotechnologii Żywności Akademii Ekonomicznej we Wrocławiu prowadzone są prace wdrożeniowe w reaktywowanej po 3-letniej przerwie Cukrowni w Raciborzu. Modernizacja technologii produkcji kwasu cytrynowego w tym Zakładzie objęła zarówno etap biosyntezy, jak i oczyszczania produktu, a przede wszystkim umożliwiła uniknięcie powstawania gipsu i odcieku pocytrynianowego oraz uzyskanie znacznych oszczędności wody i energii. Planowane wprowadzenie ultrafiltracji i odwróconej osmozy pozwoli Zakładowi otrzymać kwas cytrynowy o jakości odpowiadającej normie B.P.

Z przemysłem współpracuje również Katedra Inżynierii Bioprocessowej PŁ, gdzie opracowano takie urządzenia jak: reometr do ciągłego pomiaru reologicznych właściwości brzeczek fermentacyjnych (wykorzystywany w Wytwórni Kwasu Cytrynowego w Zgierzu), doświadczalną instalację do ciągłej, bezprzeponowej sterylizacji cieczy i zawiesin metodą UHT (wykorzystanie w WKC-Zgierz i w Zakładach Ziemiaczanych w Luboniu), fermentor do ciągłej fermentacji etanolowej z zastosowaniem flokulujących szczepów drożdży i reaktory typu *airlift*, ekstraktor pulsacyjny do wyodrębniania enzymów z komórek drożdży oraz młyny perełkowe do dezintegracji komórek drobnoustrojowych. Trwają również próby opracowania metod suszenia materiałów biologicznych, m.in. drożdży (współpraca z Wytwórnią Drożdży w Tczewie). Problemem suszenia liofilizacyjnego i próżniowego produktów biosyntezy zajmują się również zespoły naukowe w Instytucie Inżynierii Chemicznej i Chemii Fizycznej Politechniki Szczecińskiej. (Raport CPBP, IBT-PŁ, Łódź, 1990).

5. Procesy z wykorzystaniem immobilizowanych komórek lub enzymów

Duże osiągnięcia ma polska biotechnologia w dziedzinie technologii otrzymywania i zastosowania unieruchomionych preparatów enzymatycznych, syntezy nośników i membran do ich unieruchamiania, a także opracowania urządzeń umożliwiających wykorzystanie immobilizowanych biokatalizatorów.

W ostatnim czasie w Instytucie Technologii Organicznej i Tworzyw Sztucznych Politechniki Wrocławskiej zsyntetyzowano kilkaset kopolimerów i terpolimerów akrylowych oraz uruchomiono produkcję kilkunastu nośników poliamidowych. Na zsyntetyzowanych membranach poliamidowych unieruchomiono szereg enzymów (oksydaza glukozy, ureaza, α -glukozydaza, lipaza, inwertaza, glukoamylaza, rybonukleaza, fosfodiesteraza z jadu węża). Niektóre z tych preparatów znalazły zastosowanie w konstrukcji elektrod enzymatycznych (cyt. w „Raporcie” CPBP 04.11, IBT-PŁ, Łódź, 1990).

Pozytywne wyniki uzyskano w Instytucie Biochemii Technicznej Politechniki Łódzkiej w zakresie immobilizacji enzymów bezpośrednio w komórkach drobnoustroju — producenta (α -galaktozydaza, lipaza pleśniowa, enzymy lityczne promieniowców). Prowadzone są również interesujące prace z zakresu unieruchamiania całych komórek drobnoustrojów. Tak na przykład immobilizowane w alginianie komórki drożdży *S. cerevisiae* (IBT-PŁ, KTRiP-AR-Wrocław) zastosowano w ciągłej fermentacji etanolowej (IBT-PŁ), do prowadzenia inwersji stężonych roztworów sacharozy (ZiChiB-AR-T-Bydgoszcz), oraz w procesie biosyntezy tiaminy i jej formy enzymatycznej (IBT-PŁ). Unieruchomiona na pumeksie grzybnia *A. niger* wykorzystano do produkcji oksydazy glukozowej (ZMS-UMCS-Lublin), unieruchomione szczepy bakteryjne — w procesach ciągłej fermentacji beztlenowej (ITŻPR-AR-Poznań), a szczep pleśni *Mortierella vinacea* immobilizowany w alginianie wykorzystano w procesie ciągłej hydrolizy rafinozy (IBT-PŁ). W KBiMŻ-AR-Poznań prowadzone są prace dotyczące fermentacji propionowej w systemie komórek immobilizowanych. Bioreaktory z unieruchomionymi komórkami wykorzystywane są do produkcji kultur starterowych dla przemysłu mleczarskiego. Z osiągnięć inżynierii enzymowej korzysta także farmacja, gdzie unieruchomione, zrekombinowane szczepy *E. coli* są stosowane w badaniach procesów biosyntezy heterologicznych białek (SPBŚL-AM-Łódź).

Zastosowanie enzymów unieruchomionych w produkcji enzymatycznych hydrolizatów skrobiowych stanowi postęp w produkcji glukozy, maltozy, maltodekstryn (zwiększenie wydajności, skrócenie czasu hydrolizy, wprowadzenie procesów ciągłych) (CLPZ-Poznań).

Próby konstrukcji aparatów i urządzeń do produkcji unieruchomionych biokatalizatorów podjęto w Instytucie Biochemii Technicznej Politechniki Łódzkiej, gdzie wykonano prototyp aparatu do unieruchamiania komórek drobnoustrojów w alginianie, tzw. generator unieruchomionych komórek. Prace nad konstrukcją urządzeń do unieruchamiania komórek prowadzone są również w Zakładzie Inżynierii Chemicznej i Bioprosesowej Akademii Rolniczo-Technicznej w Bydgoszczy.

6. Procesy biokonwersji i biotransformacji

Prowadzone w Polsce prace w zakresie biokonwersji i biotransformacji koncentrują się m.in. wokół takich zagadnień jak:

- aktywność transformacyjna grzybów rozkładających drewno (w Zakładzie Biochemii UMCS w Lublinie prowadzone są kompleksowe badania dotyczące współdziałania poszczególnych enzymów celulo- i ligninolitycznych w różnych fazach rozwoju grzyba, degradujących kompleks ligninowo-glukowodanowy do niskocząsteczkowych produktów metabolicznych);
- rozkład celulozy i wiązań N-N w mieszanych hodowlach grzybów *Trichoderma reesei* i *Azospirillum brasiliense* (IM-UW-Wrocław);

- optymalizacja procesów enzymatycznego scukrzania odpadów ligninocelulozowych, (IBT-PŁ, ZB-UMCS-Lublin);
- otrzymywanie białka mikrobiologicznego na bazie odpadów ligninocelulozowych (IBT-PŁ, KBiMŻ-AR-Poznań, ITŻPR-AR-Poznań);
- biodegradacja i biotransformacja celulozy dla uzyskania masy celulozowej, przydatnej do ekologicznego wytwarzania włókien celulozowych (IWCh-Łódź, IBT-PŁ);
- otrzymywanie etanolu z odpadów celulozowych (IBT-PŁ, KTPR-SiP-AR-Lublin);
- biodegradacja herbicydów przez drobnoustroje glebowe (KBiMŻ-AR-Wrocław);
- enzymatyczna laktonizacja kwasów Ω -hydroksykarboksylowych C_{14} - C_{16} do makrocyklicznych laktonów, obdarzonych zapachem piżma (IBT-PŁ, IPChŻ-PŁ);
- zastosowanie enzymów lipolitycznych w procesach transestryfikacji tłuszczów (KTiChT-PG-Gdańsk);
- wprowadzanie enzymatycznych metod obróbki produktów odpadowych przemysłu skrobiowego w celu lepszego ich wykorzystania (amylazy, celulazy) (CLPZ-Poznań).

W opracowaniu nie przedstawiamy danych dotyczących procesów biokonwersji i biotransformacji dla potrzeb medycyny i farmacji.

7. Preparatyka enzymów o znaczeniu biotechnologicznym

Do najważniejszych prac dotyczących izolowania, oczyszczania, stabilizacji, krystalizacji oraz molekularnej i katalitycznej charakterystyki enzymów, wykonanych ostatnio w polskich laboratoriach zaliczyć należy:

- wyizolowanie i oczyszczenie czterech β -1,3-glukanaz *Streptomyces sp.*, określenie ich właściwości katalitycznych i synergizmu działania w procesach lizy komórek drożdży (IBT-PŁ);
- oczyszczenie i scharakteryzowanie lipazy *Mucor javanicus*, która katalizuje syntezę estrów kwasów karboksylowych w środowisku rozpuszczalników organicznych i laktonizuje kwasy hydroksylowe do makrocyklicznych laktonów (IBT-PŁ);
- opracowanie metodyki oczyszczania lipazy *Rhizopus nigricans*, szczególnie efektywnej w hydrolizie olejów roślinnych (IBT-PŁ);
- oczyszczenie i scharakteryzowanie proteiny serynowej i jej białkowych inhibitorów, określenie możliwości zastosowania tych bioproduktów w procesach biotechnologicznych, w medycynie i diagnostyce klinicznej. Otrzymanie muteiny ww. inhibitorów o zaprogramowanej specyficzności wobec klinicznie ważnych proteinaz serynowych (IB-UWr-Wrocław);
- oczyszczenie i scharakteryzowanie aspartyłowej proteiny *Penicillium camemberti* o podpuszczkopodobnych właściwościach. Enzym można wy-

- korzystać w produkcji serów (twardych z mleka krowiego i miękkich z mleka koziego) o doskonałej jakości (IB-UWr-Wrocław);
- wyizolowanie i scharakteryzowanie trawiennej proteiny z antarktycznego kryla o właściwościach kolagenolitycznych. Rokuje to możliwości wykorzystania tego enzymu w leczeniu skutków poparzeń i w degradacji nekrotycznych tkanek (IBT-PŁ);
 - otrzymanie w stanie homogennym i scharakteryzowanie trzech proteinaz serynowych *Streptomyces fradiae*, współdziałających w degradacji białek keratynowych (IBT-PŁ);
 - uzyskanie z zastosowaniem chromatografii powinowactwa jednorodnej ciełej renniny (ZB-UMCS-Lublin);
 - oczyszczenie i scharakteryzowanie enzymów pleśniowych, rozkładających ligniny (ZB-UMCS-Lublin) oraz celulozę (ZB-UMCS-Lublin, IBT-PŁ);
 - określenie właściwości poszczególnych enzymów kompleksu celulolitycznego (IBT-PŁ);
 - oczyszczenie i scharakteryzowanie dwóch form pululanazy *Aerobacter aerogenes* rozpuszczalnej — wydzielanej do podłoża i formy związanej ze ścianą komórkową (IBT-PŁ);
 - otrzymanie i scharakteryzowanie wysokooczyszczonych preparatów kwasostabilnej α -amylazy *A. niger*, dekstranazy *Penicillium funiculosum*, α -galaktozydazy *Mortierella vinacea* (IBT-PŁ);
 - opracowanie metody ekstrakcji wewnątrzkomórkowej oksydazy glukozy, co pozwala na wyeliminowanie mechanicznej dezintegracji grzybni i zwiększa 7-8-krotnie uzysk enzymu (ZMS-UMCS-Lublin);
 - izolowanie z grzybni *A. niger* (po produkcji kwasu cytrynowego):
 - a) poligalakturonazy — wspomagającej działanie preparatu Pektopol przy depektynizacji mas owocowych (IBT-PŁ),
 - b) kwaśnej fosfatazy (do defosforylacji pasz — KBŻ-AR-Kraków);
 - otrzymanie krystalicznej α -amylazy *B. subtilis* i pochodnych monokryształów tego enzymu z metalami ciężkimi. Pozwoli to na ustalenie konformacji cząsteczki tego enzymu. Zaawansowane są prace nad krystalizacją subtilizyny *B. subtilis*, glukoamylazy *A. niger* i keratynazy promieniowców (IBT-PŁ).

8. Biotechnologia w ochronie środowiska

Procesy biodegradacji odpadów płynnych i stałych są procesami biotechnologicznymi w pełnym tego słowa znaczeniu, wymagającymi użycia drobnoustrojów o szczególnych właściwościach i prowadzonych w warunkach często dalekich od optymalnych dla ich rozwoju. Z ogromu zagadnień związanych z biodegradacją odpadów, wymagających oddzielnego omówienia, w opracowaniu tym pragniemy uwypuklić tylko te, które są podejmowane w podanych na wstępie placówkach biotechnologicznych i służą przygotowaniu odpowied-

niej mikroflory i technologii dla realizacji tych ważnych dla ochrony środowiska celów.

Przedmiotem zainteresowania kilku ośrodków są tematy związane z utylizacją ścieków przemysłu spożywczego. W Instytucie Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Politechniki Łódzkiej opracowano podstawy technologii wykorzystania wywaru melasowego z gorzelnii rolniczych w produkcji paszowego preparatu witaminy B₁₂, jak również podjęto próby uzyskania z tego surowca wysokoenergetycznego biogazu o zawartości 70% metanu. W Instytucie tym opracowano również technologię fermentacji metanowej odcieku po produkcji erytromycyny, pozwalającej na zmniejszenie ładunku zanieczyszczeń w odcieku o 60-80%. Wyniki te potwierdzono w skali mikrotechnicznej w TZF „Polfa” w Tarchominie.

W IBŻ-AR-T-Olsztyn do biodegradacji ścieków mleczarskich zastosowano immobilizowane enzymy, opracowując model kinetyczno-dyfuzyjny oczyszczania tego rodzaju ścieków.

Skuteczne metody oczyszczania wód koksowniczych przez mieszane populacje drobnoustrojów utylizujących fenole i cyjanki opracowano w Katedrze Biochemii Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach. W Katedrze Biochemii i Biofizyki Śląskiej Akademii Medycznej w Sosnowcu w ciągu ostatnich pięciu lat opublikowano 10 prac dotyczących ługowania siarki piritowej z węgla, bioekstrakcji metali z odpadów i rud, czy też zmniejszania zawartości siarki w paliwach organicznych przy udziale bakterii.

Prototyp aparatu do pomiaru aktywności oddechowej drobnoustrojów, który może być wykorzystany do ciągłej kontroli w oczyszczalniach ścieków zbudowano w Instytucie Inżynierii i Technologii Wody, Ścieków i Odpadów Politechniki Śląskiej w Gliwicach.

Na szczególną uwagę zasługują badania skringingowe, mające na celu wyselekcjonowanie drobnoustrojów efektywnie degradujących substancje ksenobiotyczne (np. węglowodory ropy naftowej, pestycydy, insektycydy) obciążające glebę, wody gruntowe, ścieki, zbiorniki wodne. Obszar Polski, szczególnie jeśli chodzi o skażenie substancjami ropopochodnymi należy do najbardziej zanieczyszczonych w Europie. Badania z tego zakresu podejmowane są w Łodzi, Wrocławiu, Gdańsku, Warszawie, Poznaniu, Kielcach. Mają one na celu nie tylko selekcję odpowiedniej mikroflory, ale i opracowanie optymalnych warunków procesu biodegradacji oraz znalezienie metod umożliwiających kontrolę produktów rozkładu ksenobiotyków w środowisku naturalnym.

9. Współpraca jednostek badawczych z przemysłem

Większość z opracowywanych aktualnie zagadnień z zakresu biotechnologii klasycznej ma charakter wyraźnie aplikacyjny. Dotyczy to głównie, takich dziedzin jak: przemysł gorzelniczy, browarnictwo, winiarstwo, przemysł piekarniczy, mleczarski, ziemniaczany, produkcja enzymów i inne. Elementy współczesnej biotechnologii klasycznej zaznaczają coraz silniej swoje miejsce i w in-

nych gałęziach przemysłu, np. farmaceutycznym, włókienniczym, w energetyce, chemii, ochronie środowiska. Większość placówek badawczych ocenia aktualne możliwości wdrożenia opracowanych przez siebie technologii za znikome. Przyczyny tego zjawiska są z pewnością złożone; kryzys gospodarczy, niestabilizowana sytuacja w przemyśle związana z jego restrukturyzacją, brak środków na inwestycje, wysokie oprocentowanie kredytów. Sytuacja ta stwarza ponadto doskonale warunki dla ekspansji technologii zagranicznych. Mimo to pewne rodzime wdrożenia stały się faktem, a współpraca placówek badawczych z przemysłem jest kontynuowana (choć w ograniczonym zakresie).

Jednostką zasługującą na szczególne wyróżnienie jest wspomniany wcześniej Oddział Produkcji Preparatów Enzymatycznych w ZPOW w Jaśle. Potencjał produkcyjny Zakładu wynosi 450 ton preparatów enzymatycznych rocznie. Prowadzone są tu własne badania i ściśle współpracuje się z kilkoma ośrodkami naukowymi, głównie z Instytutem Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie (wdrożona technologia produkcji proteazy, gluukoamylazy) oraz z Instytutem Biochemii Technicznej Politechniki Łódzkiej (wdrożona technologia produkcji α -amylazy bakteryjnej). Tak jak już wspomniano, w Zakładzie tym aktualnie realizuje się inwestycję nowej hali produkcyjnej, mieszczącej 4 fermentory o pojemności całkowitej 80 m³. Stwarza to możliwość sześciokrotnego podwyższenia zdolności produkcyjnej Zakładu.

Innym przykładem wdrożeń rodzinnych technologii jest uruchomienie produkcji kwasu cytrynowego w Cukrowni „Racibórz”, „Polfie”-Kraków i przedsiębiorstwie „Biorol” w Wałczu. Technologia ta została opracowana w Katedrze Biotechnologii Żywności Akademii Ekonomicznej we Wrocławiu. Placówka ta sprzedała również opracowaną przez siebie wysokoproduktywną technologię produkcji kwasu mlekowego firmie „Akwawit”.

Na uwagę zasługują rozwiązania technologiczne oferowane przez Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie. Instytut ten sprzedał ostatnio na rynek krajowy kilka licencji. Dotyczyły one m.in. produkcji aromatów spożywczych, nowych preparatów do ukiszania pasz oraz technologii otrzymywania kwasu octowego. Współpracę z zakładami mleczarskimi w zakresie badań nad możliwością wykorzystania serwatki i innych ubocznych produktów mleczarskich do hodowli grzybów jadalnych prowadzi Zakład Biochemii UMCS w Lublinie.

W Centralnym Laboratorium Przemysłu Ziemniaczanego w Poznaniu wdrożono nową technologię dwuenzymowej hydrolizy skrobi do produkcji maltodekstryn i glukozy. Trwają prace nad wykorzystaniem odpadów przemysłu ziemniaczanego do produkcji alkoholu etylowego i glukonianu sodowego.

W Katedrze Biotechnologii Żywności Akademii Ekonomicznej we Wrocławiu wdrożono w kilku zakładach przemysłowych systemy sterowania procesami ciągłymi w układzie jedno- i wielonaczyniowym. Katedra współpracuje również z przemysłem drożdżowniczym w zakresie zastosowania nowych metod sterowania dopływem pożywki w procesie hodowli drożdży piekarskich i paszowych.

Prace o znaczeniu utylitarnym dla rolnictwa i sadownictwa prowadzone są w IBMiB-UAM w Poznaniu. Dotyczą one zastosowania biologicznych metod

ochrony roślin przed owadami i infekcjami wirusowymi oraz biologicznej rekultywacji gruntów skażonych toksycznymi jonami.

Utylizacją osadów czynnych z oczyszczalni ścieków przemysłu rolno-spożywczego (gorzelnie rolnicze, cukrownie, zakłady przemysłu ziemniaczanego, mleczarnie) zajmują się zespoły ITŻPR-AR-Poznań.

Kilka ośrodków badawczych współpracuje z przemysłem farmaceutycznym (SPBŚL-AM-Łódź — biosynteza antybiotyków i aminokwasów; KBiMŻ-AR-Poznań, KTPRSiP-AR-Lublin — produkcja drożdży selenowych, IBT-PŁ — produkcja dekstranu klinicznego).

Jednocześnie w Zakładach Farmaceutycznych „Polfa” Warszawa deklaruje się chęć współpracy z jednostkami naukowymi w zakresie modernizacji produkcji heparyny.

Współpraca niektórych ośrodków badawczych z przemysłem obejmuje jedynie usługi w zakresie kontroli mikrobiologicznej procesów i produktów spożywczych lub też ekspertyzy technologiczne.

10. Najważniejsze osiągnięcia badawcze jednostek realizujących prace z zakresu biotechnologii

W podsumowaniu należy stwierdzić, że osiągnięcia nauki polskiej w zakresie „biotechnologii klasycznej” są znaczące. W ostatnich latach prowadzono badania i osiągnięto sukcesy w następujących dziedzinach:

poszukiwania metod racjonalnego skriningu w doskonaleniu cech drobnoustrojów, przeznaczonych do różnych biosyntez przemysłowych, biokonwersji, biotransformacji i biodegradacji;

optymalizacji metod przechowywania drobnoustrojów przemysłowych, jako zasobów biotechnologicznych w postaci monokultur i preparatów wieloszczepowych;

nowe efektywne metody hodowli drobnoustrojów (hodowla ciągła z zagęszczoną biomasa, hodowla w stałym złożu);

nowe rozwiązania bioreaktorów, (fermentor wieżowy, fermentor membranowy);

aparatura kontrolno-pomiarowa: oksystery, pH-stery, urządzenia odpieniające, automat do pomiaru aktywności oddechowej drobnoustrojów, reometr pomiaru właściwości reologicznych brzeczek fermentacyjnych, ekstraktor pulsacyjny;

separacja i oczyszczanie enzymów, z wykorzystaniem m.in. swoistej separacji na nośnikach, chromatografii hydrofobowej, kowalencyjnej, cieczowej (HPLC i FPLC) itd.;

inżynieria enzymowa — w tym opracowanie metod produkcji nośników do immobilizacji enzymów, unieruchamianie enzymów i komórek drobnoustrojów w nośnikach, konstrukcja aparatów do automatyzacji tego procesu;

biokataliza w środowiskach rozpuszczalników organicznych, gdzie

w środowisku bezwodnym uzyskuje się cenne produkty o wysokiej czystości i znaczeniu użytkowym;

- **matematyczne modelowanie, monitorowanie i komputerowe sterowanie** procesami biotechnologicznymi;
- **opracowanie testów enzymatycznych** (analitycznych i diagnostycznych);
- **prowadzenie w dwóch ośrodkach kolekcji czystych kultur i opracowanie bazy danych** dla tych kolekcji.

Wśród **problemów** zgłaszanych przez jednostki naukowe realizujące badania z zakresu biotechnologii na czoło wysuwają się kłopoty finansowe. Największym problemem jest niedobór środków na badania. Dofinansowanie zadań statutowych i własnych przez Komitet Badań Naukowych jest niewystarczające. Kondycja finansowa zakładów przemysłowych jest aktualnie zbyt słaba, by móc subsydiować badania naukowe. Ośrodki naukowe opierają się głównie na aparaturze i odczynnikach zakupionych do 1990 r. Większość sprzętu i aparatury ulega dekapitalizacji. Zgłaszane są także: zły stan pomieszczeń, brak wentylacji, odpowiedniego ogrzewania itp. Coraz większym problemem jest publikowanie prac w prestiżowych czasopismach, z uwagi na wymagane przez nie opłaty.

Obserwując kraje zachodnie, które dzięki intensyfikacji badań z zakresu biotechnologii czerpią dziś ogromne profity z opracowanych technologii, wydaje się, że nadszedł moment, w którym powinny być podjęte decyzje, zarówno w sprawach **ukierunkowania dalszych badań**, jak i znalezienia źródeł ich finansowania. Z opinii respondentów wynika, że wysiłki badawcze powinny się koncentrować, po pierwsze — na bioproduktach otrzymywanych w dużej skali (napoje alkoholowe, enzymy, aminokwasy, kwasy organiczne), po drugie — na opracowaniu technologii otrzymywania nowych, cennych bioproduktów (dla przemysłu spożywczego, farmaceutycznego, chemicznego), po trzecie — na opracowaniu technologii, realizowanych przy mniejszym skażeniu środowiska.

Autorzy pragną złożyć serdeczne podziękowania Dyrektorom wymienionych w opracowaniu Instytucji za dostarczenie informacji na temat zakresu prowadzonych badań, a tym samym umożliwienie przygotowania tego artykułu.

Microbial biotechnology — present state of research in Poland

Summary

The present state of science in microbial (classical) biotechnology in Poland is described. The main areas of research discussed in this paper include selection and industrial microorganisms improvement, optimisation of biosynthesis processes, engineering aspects, techniques of immobilising cells and enzymes, processes of biotransformation and biodegradation, downstream processing and biotechnology in environmental protection.

Special attention is paid to the problems of collaboration of scientific institutes with industry. The most important results in the above mentioned fields are also presented.

Key words:

classical biotechnology, biotechnology in Poland, microbial biotechnology, research, review.

Adres dla korespondencji:

Edward Galas, Instytut Biochemii Technicznej, Politechnika Łódzka,
ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924 Łódź.