



КОМПЬЮТЕРИЗАЦИЯ УЧЕБНЫХ И ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

УДК 57.083.18:004.4

И.С. Майоров, Д.Г. Чухчин, О.М. Соколов

Чухчин Дмитрий Германович родился в 1971 г., окончил в 1993 г. Архангельский лесотехнический институт, кандидат технических наук, доцент кафедры биотехнологии Архангельского государственного технического университета. Имеет более 30 печатных работ в области химической переработки древесины.



Соколов Олег Михайлович родился в 1936 г., окончил в 1960 г. Ленинградский технологический институт ЦБП, доктор химических наук, профессор, ректор, заведующий кафедрой биотехнологии Архангельского государственного технического университета, академик Международной академии наук, РИА, РАЕН, Академии проблем качества РФ, чл.-кор. МИА, заслуженный деятель науки РФ. Имеет более 170 научных трудов в области исследования процессов сульфатной варки, изучения свойств и применения технических лигнинов.



АВТОМАТИЗИРОВАННЫЙ МЕТОД МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ДРОЖЖЕВОГО ПРОИЗВОДСТВА

Предложена автоматизация метода контроля микробиологических объектов дрожжевого производства с возможностью получения данных о распределении микроорганизмов по размерам.

Ключевые слова: автоматизированный метод, микробиологический контроль, интерпретация изображений, выращивание дрожжей, проточная кювета, размер микроорганизмов.

Дрожжевое производство в целлюлозно-бумажной промышленности используется для утилизации предгидролизатов и сульфитных щелоков. Оно имеет ряд особенностей, зависящих от вида микроорганизмов, которые используются в качестве продуцентов кормового белка [4]. Культура дрожжей-продуцентов должна обладать целым комплексом полезных свойств: активно размножаться на различных средах, полностью используя источники углерода, входящие в их состав; давать высокий выход биомассы, содержащей большое количество полноценного белка и витаминов; обладать большой удельной скоростью роста; быть достаточно устойчивой к вытеснению посторонними микроорганизмами; не обладать патогенными свойствами и т.д. [1].

Микробиологический контроль дрожжевого производства обеспечивается выполнением следующих работ:

проведение систематического ежедневного контроля за физиологическим состоянием дрожжей во всех дрожжерастильных аппаратах и своевременным вме-

шатательством в процесс при ухудшении состояния дрожжевых клеток или появлении нежелательных примесей;

изучение видового состава микрофлоры, развивающейся в дрожжерастильных аппаратах данного завода, и определение процентного соотношения разных культур;

выполнение технологических параметров, обеспечивающих оптимальные условия роста рекомендованной или отобранной продуктивной культуры [6].

Проводя повседневный микробиологический контроль за состоянием и активностью производственной культуры, корректируя технологический режим выращивания дрожжей, можно активно участвовать в повышении производительности дрожжевых предприятий. Необходимо оценивать состояние микрофлоры: физиологическое состояние дрожжей, количество мертвых и почкующихся клеток, наличие ветвистых и одиночных форм, вытянутых или видоизмененных клеток, присутствие посторонних примесей (дрожжей, отличающихся от основной культуры, мицелиальных грибов, бактерий) [3]. При оценке физиологического состояния дрожжей учитывают размер клеток, их возраст, активность почкования. Размер клеток меняется от возраста, условий культивирования. Уменьшение размеров дрожжевых клеток, а также появление раздутых, гигантских экземпляров указывает на неблагоприятные условия культивирования – замедленную скорость процесса, недостаток питания и т. д.

Для того, чтобы установить процентное содержание почкующихся клеток в той или иной дрожжевой взвеси, необходимо знать их количество. С этой целью в препарате в нескольких полях зрения микроскопа (обычно в десяти) подсчитывают общее количество клеток и число почкующихся клеток.

Для определения процентного содержания мертвых клеток в дрожжевой взвеси считают также в нескольких полях зрения препарата (обычно в десяти) число мертвых клеток и общее количество клеток, вычисляют процентное отношение мертвых клеток к их общему количеству. При определении количества мертвых клеток дрожжей, культивируемых на неокрашенных средах, часто пользуются одним из методов окрашивания [2].

При микроскопировании дрожжевой суспензии необходимо также подсчитать процентное соотношение клеток основного, наиболее продуктивного, заводского штамма и клеток дрожжей-примесей [5]. При этом дают оценку чистоты производственной культуры в зависимости от содержания посторонних микробов.

Как правило, все перечисленные операции, которые проводят с помощью микроскопа, очень трудоемкие. Оперативная и точная количественная оценка процентного содержания почкующихся клеток, мертвых клеток, других параметров дрожжевой культуры таким способом затруднена.

В настоящее время, благодаря высокопроизводительной компьютерной технике, возможна количественная интерпретация изображений, полученных с помощью микроскопа. При автоматическом подсчете в тысячи раз возрастает скорость интерпретации изображений производственной дрожжевой культуры, что позволит сократить продолжительность анализа и повысить его точность. Кроме контроля количества клеток, можно также контролировать другие характеристики дрожжей: скорость (активность) почкования, отклонение размеров клеток в сторону увеличения или уменьшения размеров и т.п.

На кафедре биотехнологии Архангельского государственного технического университета разработан программно-аппаратный комплекс, состоящий из видео-

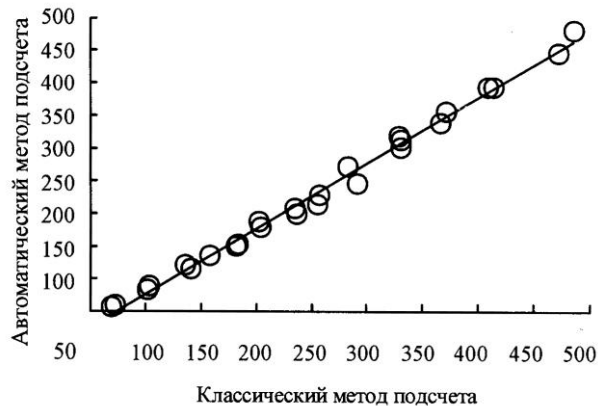


Рис. 1. Изучение адекватности разработанного метода подсчета микроорганизмов

камеры, микроскопа, компьютера и соответствующего программного обеспечения для определения различных параметров дрожжевых культур, например размера дрожжевых клеток и активности почкования (время удвоения). Использование данного комплекса в сотни раз сокращает время анализа, так как на обработку одной пробы затрачивается несколько секунд.

Исходное изображение пробы для анализа может поступать как из ранее созданного фото- или видеофайла, так и с видеокамеры, совмещенной с микроскопом. Это позволяет работать в режиме реального времени, что очень важно для своевременной реакции на любые изменения в процессе выращивания дрожжей. Программно-аппаратный комплекс способен выдавать данные как в числовом, так и в графическом виде, а также в процессе работы способен накапливать статистические данные о проведенных анализах.

Результаты, полученные на комплексе, удовлетворительно совпадают с опытными данными прямого подсчета в камере Горяева – Тома. На определение автоматическим методом не влияют ни размер, ни вид микроорганизмов, ни наличие примесей немикробного происхождения. Для оценки адекватности работы алгоритма была построена корреляционная зависимость (рис. 1), коэффициент корреляции составил 0,9929.

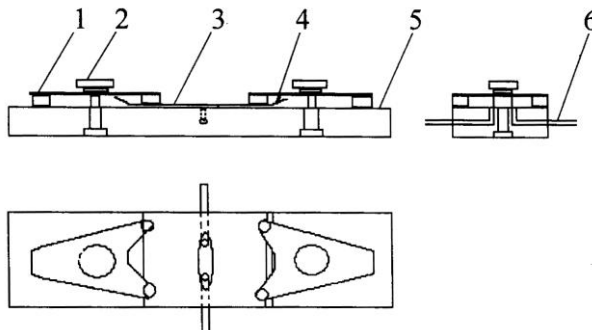
При определении с помощью микроскопа необходимо исследуемую пробу перемещать под объективом, что увеличивает продолжительность процесса. Комплекс позволяет производить подсчет микроорганизмов в потоке жидкости, что повышает точность определения числа микроорганизмов и их концентрации.

Для этих целей нами была разработана проточная кювета (рис. 2).

Полиэтиленовая прокладка 4 необходима для задания высоты слоя жидкости до 10 мкм, чтобы при наблюдении и подсчете все микроорганизмы находились в фокусе микроскопа. Только в этом случае точность подсчета будет высокой. В прокладке прорезан канал. В результате между покровным и предметным стеклом образуется плоский капилляр, по которому течет суспензия микроорганизмов. В качестве патрубков подачи–отбора используют тонкие стальные трубки, на которых крепятся фторопластовые шланги.

Суспензию микроорганизмов из резервуара подают в кювету самотеком. Регулируя высоту подъема резервуара, можно регулировать скорость движения

Рис. 2. Схема устройства проточной кюветы:
 1 – прижимная пластина;
 2 – крепежный винт;
 3 – покровное стекло;
 4 – полиэтиленовая прокладка; 5 – корпус; 6 – патрубков подачи-отбора



суспензии под объективом микроскопа. Использование проточной кюветы позволяет перемещать и подсчитывать сотни тысяч микроорганизмов в течение нескольких минут. Кроме того, с помощью комплекса можно получить данные о распределении микроорганизмов исследуемой дрожжевой культуры по размерам (рис. 3).



Рис. 3. Распределение микроорганизмов по размерам (концентрация 44,5 млн шт./мл)

Таким образом, разработанный программно-аппаратный комплекс, позволяет получать точные данные о количестве микроорганизмов в дрожжевой суспензии и их распределении по размерам.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андреев А.А. Производство кормовых дрожжей / А.А. Андреев, Л.И. Брызгалов. – М.: Лесн. пром-сть, 1986.
2. Бабаева И.П. Методы выделения и идентификации дрожжей / И.П. Бабаева, В.И. Голубев. – М.: Пищевая пром-сть, 1979.
3. Новаковская С.С. Справочник технолога дрожжевого производства / С.С. Новаковская. – М.: Пищевая пром-сть, 1973.
4. Сапотницкий С.А. Использование сульфитных щелоков / С.А. Сапотницкий. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Лесн. пром-сть, 1981.
5. Семушина Т.Н. Исследования производственно ценных штаммов дрожжей в гидролизной промышленности / Т.Н. Семушина, Н.И. Монахова // Гидролиз. и лесохим. пром-сть, 1984.
6. Семушина Т.Н. Микробиологический контроль гидролизно-дрожжевого производства / Т.Н. Семушина, Н.И. Монахова, Л.А. Гусарова. – 2-е изд., доп. – М.: Экология, 1991.

Архангельский государственный
 технический университет
 Поступила 26.04.05

I.S. Majorov, D.G. Chukhchin, O.M. Sokolov

Automated Method of Microbiological Control of Yeast Production

Automation of the control method for microbiological objects of yeast production is proposed with a possibility of getting data on dimension distribution of microorganisms.
