

Тема: ЕТАПИ БІОТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ

1. Підготовчий етап.
2. Виробничий етап біотехнологічного процесу.
3. Заключний етап біотехнологічного процесу.

I. Підготовчий етап.

1. Постановка завдання, вибір стратегії його вирішення, підготовку технічної документації і технічних інструкцій.
2. Підбір, отримання або придбання продуцентів.
3. Підбір, виробництво або придбання біореакторів або промислових установок.
4. Підготування поживних середовищ і підготовка умов культивування.
5. Нарощування маточних культур або продуцентів.
6. Запуск виробництва.

Основні вимоги до продуцентів, що використовуються у біотехнології:

- високий стабільний вихід цільового продукту;
- невисока ціна середовищ;
- простота культивування;
- висока швидкість росту і вихід продукту за коротких час;
- зберігання характеристик при тривалому культивуванні;
- стійкість до можливих контамінантів (інших мікроорганізмів);
- цільовий продукт повинен відносно легко виділятися;
- безпечність для оточуючого середовища.

Відмінні (від хімічних) особливості біотехнологічних процесів ферментації:

- 1) чутливість продуцентів до фізико-хімічних і механічних впливів;
- 2) забезпечення масопередачі у багатофазних системах;
- 3) тривалість періодичного культивування (8–12 діб);
- 4) дотримання стерильності;
- 5) піноутворення;
- 6) багатокомпонентність живильних середовищ;
- 7) складність механізмів регуляції росту і біосинтезу продуцентів.

II. Виробничий етап біотехнологічного процесу.

Виробничий етап – це сукупність послідовних операцій від початку функціонування об'єкта до завершення процесів росту, біосинтезу або біотрансформації, які можуть бути обумовлені вичерпанням компонентів живильного середовища старінням культури, зміненням характеристики об'єкта тощо. Для цього в процесі виробництва необхідно контролювати десятки фізико-хімічних параметрів середовища культивування, кількість яких може варіювати залежно від завдання виробництва. Усі необхідні параметри контролюються автоматично і в динаміці. За необхідності, у разі

відхилення від заданих характеристик проводиться їх корекція: внесення необхідних компонентів, або їх видалення.

Параметри середовища культивування, що контролюються:

- рН середовища та окислювально-відновлювальний потенціал;
- тиск та температура у біореакторів;
- рівень і маса середовища культивування;
- рівень рідини та газів;
- швидкість обертання мішалок (для регуляції рівня піни);
- концентрація катіонів і аніонів;
- концентрація солей у живильному середовищі;
- концентрація газів у повітрі.

Основна мета на цьому етапі – забезпечення максимально сприятливих умов функціонування біооб'єкта (максимальне отримання цільового продукту при мінімальних затратах).

Основні завдання виробничого етапу.

Серед завдань, які необхідно вирішувати на виробничому етапі, можна розділити наступні:

1. Підтримання і контроль асептичних (стерильних) умов.
2. Створення і контроль умов росту культур (температурний режим, масо- і газообмін, якості поживного середовища – зменшення поживних речовин і збільшення продуктів метаболізму).
3. Концентрація ферментів і білків у культуральній рідині.
4. Відсутність сторонньої мікрофлори.
5. Рівень піноутворення.

Особливості вирішення цих задач.

1. Підтримання і контроль асептичних (стерильних) умов.

У процесі виробничого етапу постійно відбувається газообмін із середовищем і культуральними середовищами, тому необхідно дотримуватися умов стерильності, що досить складно при великих об'ємах виробництва.

Рішення цієї проблеми полягає:

1. у застосуванні попередньо очищеного від контамінантів (іншої мікрофлори) повітря за допомогою фільтрів;
2. стерилізація поживних середовищ у процесі культивування;
3. контроль стерильності умов виробництва.

2. Створення і контроль умов росту культур.

Температурний режим. У процесі культивування постійно змінюється температурний режим, тому постійно потрібно або відводити тепло, або (навіпаки) підігрівати середовище. Так, у аеробних умовах відбувається тепловиділення, причому чим вище інтенсивність росту культури, тим більша швидкість розігріву культуральної рідини.

Найбільш простим способом відводу тепла є застосування оборотної води через змійовики, водяні сорочки тощо.

Дещо простіше здійснювати контроль підвищення температури: існують різні системи підігріву – електричні, водяні.

Масо- і газообмін. Важливою особливістю біологічних об'єктів є їхня гетерогенність, тобто неоднорідність. Рідке середовище, у якому культивують мікроорганізми, теж є гетерогенним, бо в ньому є рідкі, тверді і газоподібні компоненти (фази). У процесі життєдіяльності клітини утилізують частину компонентів із середовища і постійно виділяють екзометаболіти, тобто вони самі створюють гетерогенність хімічного і газового складу. Таким чином сам об'єкт постійно створює відхилення від оптимальних для нього умов функціонування. Завдання біотехнолога забезпечити максимальну продуктивність об'єкта в штучних умовах шляхом усунення факторів «самознищення».

Забезпечення необхідного масо- і газообміну.

- перемішування культур – це складне завдання, тому, що інтенсивне перемішування призводить до активного піноутворення, яке є вкрай небажаним явищем. Використання піногасників призводить до проблем, пов'язаних з їх побічною дією і дотримання стерильності.

Забезпечення киснем (аеробних культур) – за рахунок гарної розчинності кисню у воді, або шляхом підвищення парціального тиску кисню у газі. (парціальний тиск – це тиск газу або пари у суміші, який мав би цей газ або пара, якщо він один займав увесь об'єм у суміші).

Забезпечення культивування анаеробів, яке не потребує аерації, пов'язано з вирішенням проблеми видалення кисню із середовища, що досягається введенням у реактор інертного газу або витіснення кисню вуглекислотою, яка виділяється у процесі метаболізму об'єкту, що культивується. Герметизація біореактора створює певні складності, бо утруднює перемішування і теплообмін.

Необхідний постійний контроль складу, вмісту кисню, вуглекислого газу у середовищі культивування, а за необхідності регулюється інтенсивність перемішування.

3. Склад і якість поживного середовища.

Найважливішим фактором оптимального росту клітинної культури є склад і якість живильного середовища, які динамічно змінюються, що виражається у зменшенні вмісту корисних для клітин речовин і неперервному зростанню продуктів метаболізму (екзометаболітів). Крім того, компоненти, що входять до складу поживного середовища, можуть змінюватися з неоднаковою швидкістю, що призводить не тільки до збіднення складу, але й до змінення співвідношення між компонентами.

Контроль складу культурального середовища одна з найскладніших задач виробничого етапу.

Процес культивування поділяють на: періодичне культивування, неперервне культивування, напівнеперервне культивування:

- при періодичному культивуванні у склад поживного середовища не вводять додаткові компоненти, а після завершення циклу культивування виділяють цільовий продукт (коли цільовий продукт накопичується у процесі культивування);
- при неперервному культивуванні необхідна постійна підтримка заданого стаціонарного стану середовища (контролюється автоматично за допомогою комп'ютерних систем);
- напівперевний процес культивування – така система культивування при якій через певний інтервал часу відбирається частина біомаси і вноситься свіже поживне середовище, що значно збільшує термін культивування. Для цього застосовують автоматичні системи реєстрації і подачі необхідних компонентів у біореактор.

У середовищі культивування контролюють такі параметри:

- 1) температуру;
- 2) рН середовища – за допомогою рН-електродів (скляний мембранний електрод);
- 3) тиск – за допомогою мембранних манометрів, що дають пневматичний сигнал, який перетворюється в електричний);
- 4) в'язкість середовища – оцінюють потужність, яка потребує мішалка за різної швидкості обертання;
- 5) уміст кисню – за допомогою гальванічних (потенціометричних) або полярографічних (електрод Кларка) зондів (виміряється парціальний тиск).

4. Контроль стану культури в процесі виробництва.

Важливою проблемою є втрата виробничої якості культури, яка може бути з двох причин:

аутоселекція – самовільна селекція клітин у процесі тривалого культивування, основним фактором якого є спонтанні мутації, нестабільність генома у процесі інтенсивного культивування. В результаті можуть втрачатися висхідні властивості культури і промисловий штам може бути втрачено;

контамінація – коли у «чисту культуру» попадає культура грибів, або бактерій, що швидко розмножуються і ростуть. Вони можуть досить швидко інгібувати (гальмувати) ріст культури-продуцента.

Методи контролю стану культури:

- морфологічний метод контролю (визначення форми, розмірів структури клітин);
- генетичний метод контролю (функціональна нестабільність).

III. Заключний етап біотехнологічного виробництва.

Головним завданням завершального етапу біотехнологічного виробництва є *виділення та очистка* цільового продукту. Цей процес ускладнюється тим, що у біомасі знаходяться розбавлені розчини і складна суміш розчинних позаклітинних метаболітів,

продуктів розкладу клітин, компонентів поживного середовища. При концентруванні цільового продукту в процесі виробництва відбувається інгібування росту продуцентів та їхня загибель.

У залежності від типу цільового продукту (біомаса або окремі метаболіти – ферменти, гормони, вітаміни) використовують різні типи концентрування та виділення. З огляду на те, що продукти мають біологічну природу (ферменти, гормони, вітаміни тощо), у чистому вигляді вони можуть втрачати свої властивості та активність. Тому для забезпечення їх збереження використовують різні способи стабілізації (сушіння, консервацію).

У процесі виробництва біологічні об'єкти не повністю використовують компоненти поживного середовища, крім того, вони утворюють велику кількість різних сполук, крім цільового продукту, тому виникає проблема їх утилізації.

Отже завершальний етап біотехнологічного виробництва включає:

- 1) концентрування продукту;
- 2) виділення і очистка продукту;
- 3) стабілізація і фасування продукту;
- 4) утилізація побічних продуктів.

Цільовий продукт – це очищена речовина, суміш речовин або біомаса клітин, що мають господарську цінність і отримуються як кінцевий продукт біотехнологічного виробництва.

Концентрування – збільшення вмісту продукту у об'ємі за рахунок зменшення вмісту води залежить від цільового продукту.

Використовують способи:

- упарювання і сушіння (якщо білково-вітамінний комплекс);
- седиментація – осадження часток у полі гравітаційних сил;
- декантація – зливання рідини (звіджування);
- фільтрація;
- флотація – прилипання часточок до бульбашок повітря (піна);
- центрифугування – розділення неоднорідних сумішей на компоненти за допомогою центробіжної сили;
- сепарація.

Флотація застосовується, якщо клітини через низьке змочування накопичуються в поверхневих шарах рідини біореактора. Основою флотації є спливаючі бульбашки газу, вони захоплюють клітини і виносять їх на поверхню. Використовують флотатори різних конструкцій, вони здатні звіджувати, відкачувати або зішкрібати піну, в якій знаходяться клітини.

Метод економічний, високо продуктивний, його можна застосовувати в умовах безперервного процесу. Флотація, як перший етап, широко використовується для освітлення культуральної рідини за рахунок відділення дріжджової маси. Таким методом вдається збільшити концентрацію дріжджів у 4–6 разів.

Фільтрація. В даний час застосовують барабанні, дискові, стрічкові, тарілчасті, карусельні вакуум-фільтри, фільтри-преси, мембранні фільтри і т.д. У всіх фільтрах використовується один і той же принцип – затримання біомаси на пористої фільтруючій перегородці.

Діаметр пор може перевищувати розміри клітин, однак це не знижує ефективність фільтрації. Справа в тому, що в міру проходження рідини діаметр капілярних каналів звужується через прилипання частинок і це перешкоджає проскакуванню біомаси через фільтр. Якщо фільтри діють в безперервному режимі, то передбачають автоматичне видалення шару біомаси стислим повітрям або за допомогою спеціального ножа. Для цього, зокрема використовуються барабанні вакуум-фільтри, які являють собою порожній циліндр, занурений в культуральну рідину. Внутрішній об'єм барабана відділений від рідини фільтруючим дрібнопористим матеріалом.

Струм рідини через фільтруючий шар створюється шляхом відкачування повітря зсередини барабана вакуумним насосом. Суспензія налипає на барабан і її зрізають ножом. Широко використовують для процесів періодичного режиму мембранні (тефлонові) фільтри, особливо тоді, коли є сильно розбавлена клітинна суспензія. Однак такі фільтри часто закупорюються клітинами, білками, колоїдними частками. Зрізання або здування матеріалу тут малопридатні, бо ушкоджують фільтри. Для подолання цієї проблеми мембрани покривають гідрофільним шаром, що перешкоджає контакту білків з мембраною.

Центрифугування. Метод заснований на осадженні зважених в рідині частинок із застосуванням відцентрової сили. З економічної точки зору цей метод менш вигідний і виправдовує себе, якщо:

- суспензія фільтрується повільно;
- необхідно максимальне звільнення культуральної рідини від частинок, що містяться;
- необхідний безперервний процес сепарації в умовах, коли фільтри розраховані тільки на періодичну дію.

У деяких виробничих процесах використовують одночасно центрифугування і фільтрацію – фільтраційні центрифуги.

Методи виділення продукту.

Для відділення продуктів використовують *осадження, екстракцію або адсорбцію*.

Осадження. Застосовуються фізичні (нагрівання, охолодження, розрідження або концентрування розчину) або хімічні (перетворення в малорозчинні сполуки) методи впливу. Так, пеніцилін переводять в кристалічний осад у присутності сполук калію. Білки відокремлюють додаванням сульфату амонію або органічних розчинників (етанолу, ацетону).

Екстракція. Розрізняють твердо-рідиннофазну, коли продукт з твердої фази переходить у рідку, і рідко-рідиннофазну – продукт з однієї рідкої фази переходить в іншу, екстракції. Прикладами твердо-рідиннофазної екстракції є: вилучення солей

металів з руд, підданих бактеріальної обробці, витяг продуктів з маси субстрату (соломи), екстракція клітинної маси ацетоном і переведення в розчин ліпідних і білкових компонентів. Рідко-рідиннофазна екстракція органічним розчинником застосовується для вилучення з культуральної рідини антибіотиків, вітамінів, каротиноїдів, ліпідів, деяких гідрофобних білків.

Адсорбція. Вона є окремим випадком екстракції. При цьому агентом, що екстрагує, служить тверде тіло. Адсорбція полягає у зв'язуванні речовини поверхнею твердого тіла з рідкої чи газової фази. Традиційними адсорбентами є деревне вугілля, глини з пористою поверхнею. Методом адсорбції з культуральної рідини виділяють антибіотики та вітаміни.

Сучасні методи розділення речовин. Вони засновані на принципах екстракції й адсорбції. **Хроматографія** – це поділ речовин, заснована на неоднаковому розподілі між двома не змішуваними фазами. Розрізняють хроматографію на папері, платівках, колонках. Сучасні методи розділення речовин включають хроматографію, електрофорез і їх модифікації.

Колонкова хроматографія допускає масштабування, застосовується в промислових умовах і має кілька різновидів:

- 1) іонообмінна хроматографія – гранули адсорбенту, наприклад, карбоксиметилцелюлози несуть катіонні ($-\text{NH}_3$) або аніонні ($-\text{SO}_3$) групи, які захоплюють іони з протилежним зарядом або служать для очищення нейтральних сполук від домішок іонів. Так, в промислових масштабах використовуються колонки з природним іонообмінником цеолітом для пом'якшення води, тобто видалення з неї Ca і Mg . Колонки з амберлітом служать для відділення вітаміну B_{12} ;
- 2) гель-фільтрація використовується для розподілення речовин з різною молекулярною масою і діаметром;
- 3) афінна хроматографія, при цьому затримується компонент, який утворює міцний комплекс з лігандом, фіксованим на частинках носія (фермент-субстрат, антиген-антитіло та ін.). Цей вид хроматографії має кілька варіантів: афінна преципітація (преципітація – від лат. швидке падіння, полягає у взаємодії розчинного антигену з антитілом з наступним випаданням дрібнодисперсного осаду) і афінний поділ.

Електрофорез дозволяє в електричному полі просторово розподілити компоненти суміші, що розрізняються за електрофоретичною рухливістю. Для проведення електрофорезу використовують пластинки або колонки з наповнювачем (агарози, поліакриламід), що утворює гель. В даний час застосовують кілька модифікацій класичного електрофорезу:

1. Двовимірний електрофорез – на суміш, що розподіляють, діють одночасно два електричних поля, спрямовані перпендикулярно один одному;

2. Електрофорез в неоднорідному електричному полі. При цьому напруженість струму зменшується в напрямку руху іонів за рахунок застосування гелів клиноподібної форми. Цей метод широко застосовується в генетичній інженерії.

3. Ізоелектричне фокусування. У цьому варіанті електрофорезу використовують розчин, що містить сполуки з кислотно-основними групами. Вони, під впливом електричного поля, змінюють ступінь іонізації і утворюють градієнт рН в напрямку електричного поля. Розподілена суміш, що рухається по градієнту рН, поступово втрачає заряд, і компоненти її зупиняються в ізоелектричній точці. При цьому кожен компонент фокусується в певній зоні гелю;

4. Іммуноелектрофорез – (ракетний, перехресний або двовимірний) заснований на взаємодіях антигену з антитілом;

5. Ізотахофорез – це рух (форез) з однаковою (ізо) швидкістю (тахо), заснований на поділі іонних компонентів суміші з різною електрофоретичною рухливістю. Зазвичай використовують два електроліти. Аніони одного з них, мають більшу рухливість, ніж катіони. Суміш, що розподіляють вносять в гель на межі розподілу двох електролітів. В електричному полі високої напруженості компоненти суміші утворюють в гелі чітко розділені зони. Причому, швидкість їх руху співпадає із швидкістю переміщення іонів електролітів.

Концентрування, зневоднення, модифікація і стабілізація продуктів. Після відділення продукту його, як правило, слід концентрувати. Для цього використовують зворотний осмос, ультрафільтрацію і випарювання. Як відомо, при прямому осмосі, завдяки дифузії речовин через мембрану, відбувається їх поділ. Якщо до розчину прикласти зовнішнє тиск, який перевищує осмотичний тиск, то розчинник витікає через напівпроникну мембрану проти градієнту концентрації розчиненої речовини, тобто відбувається концентрування розчину. Це зворотний осмос.

При ультрафільтрації відбувається відділення речовин за допомогою мембранних фільтрів. Одні фільтри призначені для відділення великих частинок: імуноглобулінів, колоїдних агрегатів, вірусів; інші мембрани, з більш дрібними порами, затримують молекули органічних кислот. Методом ультрафільтрації концентрують у т.ч. і малостабільні продукти: молочну і глютамінову кислоти, деякі антибіотики та ферменти.

При випаровуванні для видалення води або іншого розчинника розчин необхідно нагрівати, це основний недолік методу. Для того, щоб послабити негативний вплив нагрівання використовують вакуум-випарні апарати. Вони можуть бути періодично і безперервно діючі, з одноразовою і багаторазовою циркуляцією киплячого розчину. Використовують також дискові та плівкові випарні апарати, в них випаровування посилюється через розтікання рідини тонким шаром по нагрітій поверхні. Найчастіше нагріваючим агентом служить водяна пара. Якщо випарювання обмежують на стадії отримання густого сиропоподібного продукту, то вся процедура називається **упарювання**.

Повне видалення вологи, що залишилася після упарювання, зворотного осмосу, ультрафільтрації призводить до отримання сухого продукту і виділяється в особливу стадію – **зневоднення продукту (сушка)**. Вибір методу сушки залежить від фізико-хімічних властивостей продукту, зокрема, від в'язкості розчину, стабільності або життєздатності біооб'єкту при підвищених температурах. Одним із старих способів є сушіння на підносах. Зараз використовують його модифікацію – стрічкову сушку для зневоднення антибіотиків і амінокислот. Іншим методом є сушка в киплячому шарі. При цьому пара, повітря, діоксид вуглецю, димові або топкові гази подаються в сушильний апарат знизу, а частинки продукту, що зневоднюються, парять в газовому потоці. В принципі цей метод збігається за дією з газофазним біореактором. Сушка в киплячому шарі має ряд переваг: можливість регулювання процесу, інтенсивності масопередачі і теплообміну, процес можна вести безперервно. Метод використовується для сушки антибіотиків, амінокислот, крохмалю, але не суспензій клітин.

Отриманий сухий продукт надходить на зберігання після додання йому товарного вигляду або продукт піддається **модифікації**. Хімічна модифікація необхідна тоді, коли біооб'єкт представляє лише «заготовку» кінцевого продукту. Наприклад, пеніцилін G, який виробляє *Penicillium notatum*, модифікують і отримують ампіцилін, метицилін та інші напівсинтетичні антибіотики. Далі, якщо біооб'єкт продукує незавершений продукт, то його можна перетворити в кінцевий продукт, вводячи хімічним шляхом необхідні групи.

Завдяки модифікації продукту можна надати необхідну оптичну асиметрію, що дуже складно зробити хімічним шляхом. Провівши скринінг, вдається знайти біооб'єкт, який здатний споживати лише один з ізомерів (наприклад, тільки L-амінокислоти), а в середовищі залишається його оптичний антипод. В даному випадку біооб'єкт уподібнюється реактиву. Для отримання ряду ферментів, гормонів, медичних препаратів також необхідна модифікація. Так, в інсуліні бика видаляють деякі залишки амінокислот, і він стає аналогічним інсуліну людини. Таким же прийомом, видаляючи баластні амінокислоти отримують потрібні генно-інженерні білки і т.д.

Важливим етапом біотехнологічного процесу є **стабілізація продукту**.

Для цього використовують різні фізико-хімічні впливи:

- 1) сушка значно підвищує стійкість продукту до зовнішніх впливів: так зневоднені ферменти, хоча і дещо знижують свою активність, але у них підвищується стабільність і стійкість до нагрівання. Наприклад, панкреатична ліпаза свині втрачає активність при 100°C якщо вона знаходиться у водному середовищі, але при цій же температурі активна в суміші з гептаном і трибутіріном;
- 2) різні наповнювачі (грибний міцелій, пшеничні висівки, кукурудзяна мука, гліцерин, вуглеводи та ін.) стабілізують цільові продукти, в т.ч. і кормової мікробний білок;

- 3) неорганічні іони Co, Mg, Na підвищують стабільність пектинази, а 0,2% розчин формаліну і антибіотик низин – глюкоамілази.
- 4) термолабільність лізоциму фага T4 *E. coli* досягається методом білкової інженерії. Для цього в положенні 3 поліпептидного ланцюга лізоцима ізолейцин змінюють на цистеїн, що призводить до утворення нового дисульфідного зв'язку і різко підвищує термостабільність ферменту.
- 5) яскравим прикладом є біотехнологічний спосіб стабілізації меланжу при зберіганні. Меланж отримують з яєчних жовтків, це цінний харчовий продукт. Однак, через кілька місяців він темніє, а його органолептичні властивості погіршуються. Щоб цього не відбувалося з меланжу треба видалити вуглеводи. З цією метою на продукті вирощують пропіонові бактерії, які утилізують вуглеводи. При цьому термін зберігання меланжу продовжується, і він виявляється збагаченим органічними кислотами і вітаміном B₁₂ – продуктами життєдіяльності мікроорганізмів.

Очистка цільового продукту.

Цільові продукти досить різноманітні: клітини, очищені молекули тощо.

Вони представлені двома різновидами:

- біомасою клітин;
- виділеними метаболітами (екзометаболітами).

Для отримання біомаси клітин необхідно відділити клітини від культуральної рідини (сепарація, центрифугування, фільтрація). Культуральна рідина у випадку виділення екзометаболітів обробляється (за схемою) і з неї отримують цільові продукти у вигляді екзометаболітів. У разі, якщо культуральне середовище не використовується, воно є побічним продуктом.

Вибір способу очистки клітинної біомаси залежить від:

- 1) характеристики клітин (розмір, маса, концентрація);
- 2) характеристики культурального середовища (в'язкість, компоненти середовища та їх концентрація);
- 3) область застосування (корм тваринам, харчові продукти, медицина або подальша переробка);
- 4) рентабельність.

Приклад: хлібопекарські дріжджі – сахароміцети – отримують на основі вуглеводнів, концентрують флотацією, після чого клітини збирають фільтруванням на барабанних вакуум-фільтрах. Біомасу збирають з фільтру, пресують і отримують живу біомасу клітин, які здатні зброджуватися.

У разі необхідності очищення біомаси дріжджів, яку вирощують на метанолі, першим етапом очистки є сепарація. Клітини розрізняються за розмірами і масою, тому для отримання очистки на 80–90% необхідно проводити 2–3 ступені сепарації.

Очистка є досить складною якщо необхідно виділити дрібні клітини або спори бактерій. У цьому випадку вміст реактора упарюють за умов, що забезпечують біологічне збереження клітин (низька температура і вакуум).

Виділення цільового продукту з культурального середовища:

- відділення клітин-продуцентів (сепарація, фільтрація або флотація);
- виділення цільового продукту методом осаджування (спирти, органічні розчинники, висалювання з додаванням сульфату натрію або інші солі) або хроматографії.

Застосовують декілька стадій очистки, що дозволяє отримати продукт у чистому вигляді. Кількість стадій і способи очистки індивідуальні для кожного продукту.

Приклад: При отримання амінокислот, цільовий продукт можна отримати тільки шляхом кристалізації із розчинів, що попередньо очищують, використовуючи хроматографію (катіонообмінну з підбором рН середовища).

При отриманні ферментів (що містяться у культуральному середовищі) застосовують екстракцію, осаджування з розчину, ліофілізацію.

Останнім часом частіше застосовують послідовну ультрафільтрацію крізь мембрани з необхідним розміром пор.

Досить часто у якості цільового продукту використовують клітинні метаболіти (гормони, інтерферон інші БАР, які отримують біотехнологією рекомбінантних ДНК).

Першим етапом у виділенні метаболітів клітин – порушення клітинних оболонок (дезінтеграція біомаси). Для цього застосовують методи: механічні, хімічні, ферментативні, комбіновані.

- механічні – гомогенізація, ультразвукова обробка, заморожування, танення;
- хімічні – застосування різних розчинників –детергентів.