

19.04.23.

05 гр.

Мікробіологічний та хіміко-бактеріологічний аналіз.

**ТЕМА . ПЕРЕТВОРЕННЯ МІКРООРГАНІЗМАМИ СПОЛУК
ВУГЛЕЦЮ.**

План

- 1. Кругообіг вуглецю в природі*
- 2. Гліколіз*
- 3. Спиртове бродіння. Хімізм, збудники, значення*
- 4. Молочнокисле бродіння. Хімізм, збудники, значення*
- 5. Маслянокисле бродіння. Хімізм, збудники, значення*
- 6. Розклад целюлози та пектинових речовин маслянокислими мікроорганізмами*
- 7. Ацетонобутилове бродіння. Хімізм, збудники, значення*
- 8. Пропіоновокисле бродіння. Хімізм, збудники, значення*
- 9. Окислення етилового спирту до оцтової кислоти.*

Ключові терміни та поняття: *піровиноградна кислота, АТФ, гліцерин, оцтовий альдегід, типове і нетипове молочнокисле бродіння, біфідобродіння, цукровий мінімум, масляна кислота, луб'яні культури, малюнок сиру, оцет.*

1. Кругообіг вуглецю в природі

Вуглець за поширеністю на Землі займає шістнадцяте місцесеред всіх елементів і становить приблизно 0,027% маси земної кори. Вуглець надходить до біосфери в результаті фіксації в процесі фотосинтезу. Кількість вуглецю, яка щорічно зв'язується рослинами, оцінюється в 46 млрд.т.

У незв'язаному стані він зустрічається у вигляді алмазів (найбільші родовища у Південній Африці та Бразилії) і графіту (найбільші родовища у ФРН, Шрі-Ланка і Росії). Кам'яне вугілля містить до 90% вуглецю. У зв'язаному стані вуглець входить також в різні горючікопалини, в карбонатні мінерали, наприклад кальцит і доломіт, а також до складу всіх біологічних речовин. У формі диоксиду вуглецю він входить в склад земної атмосфери, в якій на його частку припадає 0,046% маси.

Вуглець має виняткове значення для живої речовини. З вуглецю в біосфері створюються мільйони органічних сполук.

Вуглекіслота з атмосфери в процесі фотосинтезу, здійснюваного зеленими рослинами, асимілюється і перетворюється в різноманітні органічні з'єднання рослин. Рослинні організми, особливо нижчі мікроорганізми, морський фітопланктон, завдяки винятковій швидкості розмноження, продукують на рік близько $1,5 \cdot 10^{11}$ т вуглецю у вигляді органічної маси. Рослини частково поїдаються тваринами. У кінцевому рахунку, органічна маса в результаті дихання, гниття ігоріння перетворюється на вуглекислий газ або відкладається у вигляді сапропелю, гумусу, торфу, які, у свою чергу, дають початок багатьом іншим з'єднанням - кам'яному вугіллям, нафти. У процесах розпаду органічних речовин, їх мінералізації, величезну роль відіграють бактерії (наприклад, гнильні), а також багато гриби (наприклад, плісняви).

Вуглець, що входить до складу органічних сполук, повертається в атмосферу у вигляді CO_2 завдяки діяльності мікроорганізмів, які здійснюють різні види бродіння, окислюють та розкладають органічні сполуки. Кожний тип бродіння спричиняється певною групою мікроорганізмів. Найчастіше в процесах бродіння мікроорганізми використовують вуглеводи, зокрема глюкозу. При всіх видах бродіння глюкоза спочатку піддається гліколізу з утворенням піровиноградної кислоти. Далі, в залежності від збудника бродіння, піровиноградна кислота залучається до тих чи інших реакцій, в результаті яких утворюються специфічні кінцеві продукти.

2. Гліколіз

Для процесів життєдіяльності мікроорганізми найчастіше використовують вуглеводи, зокрема глюкозу. Полісахариди, зазвичай, перед бродінням гідролізуються до моносахаридів. Процес анаеробного розпаду глюкози дістав назву гліколізу (глікос – солодкий, лізис – розпад).

У мікроорганізмів відомо три шляхи перетворення глюкози до піровиноградної кислоти: перший — шлях **Ембдена—Мейєргофа—Парнаса**, або **гліколіз**, другий — шлях **Ентнера—Дудорова**. Якщо гліколіз вперше було відкрито у м'язах, дріжджах, а потім і в деяких бактерій, то шлях Ентнера—Дудорова знайдено тільки у бактерій. Нарешті, третій шлях перетворення глюкози трапляється у багатьох мікроорганізмів — це **пентозофосфатний** шлях, або пентозофосфатний цикл.

Основний шлях розщеплення вуглеводів — це шлях Ембдена—Мейєргофа—Парнаса. Він властивий анаеробним і аеробним мікроорганізмам.

На початковій стадії глюкоза фосфорилується в положенні 6 за допомогою ферменту гексокінази і АТФ як донора фосфорної кислоти. При цьому утворюється фосфорний ефір глюкози і АДФ. Глюкозо-6-фосфат є метаболічно активною формою глюкози і може бути вихідною сполукою для будь-якого з названих вище шляхів перетворення цукрів.

Глюкозо-6-фосфат під впливом ферменту фосфоглюкоїзомерази ізомеризується до фруктозо-6-фосфату. Останній фосфорилується в положенні 1 під дією ферменту фосфотрикінази і другої молекули АТФ. У результаті цієї реакції утворюється дифосфорний ефір фруктози — фруктозо- 1,6-дифосфат.

Далі фруктозо-1,6-дифосфат розщеплюється альдолазою на дві молекули — фосфогліцериновий альдегід і діоксіацетонфосфат. Останній під впливом ферменту тріозофосфатізомерази перетворюється на 3-фосфогліцериновий альдегід. Це перетворення дає змогу уникнути втрати половини глюкози, що вступила в реакцію.

Цією реакцією завершується перша стадія гліколізу, в якій молекулу глюкози шляхом двох фосфорилувань і розщеплення підготовлено до другої стадії, що включає окислювально-відновні реакції і реакції фосфорилування, в процесі яких регенерується АТФ.

Друга стадія гліколізу починається з окислення 3-фосфогліцеринового альдегіду до 1,3-дифосфогліцеринової кислоти. Це один із найважливіших етапів гліколізу, оскільки енергія, яка звільняється при окисленні альдегідної групи 3- фосфогліцеринового альдегіду, зберігається у формі високоенергетичного продукту окислення — 1,3-дифосфогліцеринової кислоти. Каталізує цю реакцію фермент тріозофосфатдегідрогеназа.

На наступних етапах перетворення 1,3-дифосфогліцеринової кислоти на піровиноградну обидва фосфорні залишки переносяться на АДФ (відбувається так зване субстратне фосфорилування) і утворюється АТФ. Далі 3-фосфогліцеринова кислота під впливом ферменту фосфогліцеромутази перетворюється на 2- фосфогліцеринову кислоту. Остання, дегідратууючись за участі ферменту енолази, утворює фосфоенолпіровиноградну кислоту, яка має макроергічний зв'язок. Під впливом ферменту піруваткінази фосфоенолпіровиноградна кислота віддає свою фосфорну групу молекулі АДФ. При цьому утворюється енолпіровиноградна кислота і друга молекула АТФ. Закінчується друга стадія гліколізу спонтанним перетворенням енолпіровиноградної кислоти на піровиноградну. Отже, трансформація глюкози до піровиноградної кислоти за схемою Ембдена—Мейергофа—Парнаса приводить до виділення вільної енергії, якої досить для утворення 4 молекул АТФ. Це відбувається за окислення фосфогліцеринового альдегіду і дегідрування 2-фосфогліцеринової кислоти. Однак дві з них використовуються для перетворення глюкози на фруктозо- 1,6-дифосфат і тільки дві молекули АТФ та дві молекули НАДН, що також утворюються разом з АТФ, залишаються для процесів синтезу.

Піровиноградна кислота, що утворилася в процесі гліколізу, є проміжним продуктом, який за різних видів бродінь по-різному перетворюється. Характер цих перетворень залежить від ферментативних особливостей збудників бродіння.

3. Спиртове бродіння. Хімізм, збудники, значення

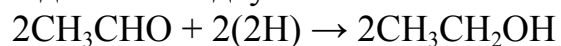
Спиртове бродіння – процес розкладу цукру мікроорганізмами до

спирту і вуглекислого газу. У 1815 р. Гей-Люссак встановив, що шести вуглецеві вуглеводи – гексози, перетворюються на спирт і CO_2 за таким рівнянням: $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \rightarrow 2\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + 2\text{CO}_2$, яке нині є загальноприйнятим.

Спиртове бродіння викликається дріжджами (*S. cerevisiae*, *S. globosus*, *S. vini* и др.), а також деякими бактеріями та окремими представниками мукових грибів. Основними збудниками є дріжджі. Вони зброджують моно- та дицукри з утворенням етилового спирту та вуглекислоти. В якості джерела азоту використовують пептон, амінокислоти чи аміачні солі. Найкраще вони розвиваються при pH 4-6 і витримують до 15-17% спирту.

Під час спиртового бродіння відбувається два періоди:

1. **Індукційний** – оцтовий альдегід, що утворюється з піровиноградної кислоти, не використовується в якості акцептора водню. Внаслідок цього в середовищі накопичується гліцерин, оцтовий альдегід та вуглекислота. Після накопичення певної кількості молекул оцтового альдегіду, реакція з використанням фосфогліцеринового альдегіду припиняється і настає друга фаза.
2. **Стаціонарний** період – водень акцептується оцтовим альдегідом, внаслідок чого відбувається посилене накопичення етилового спирту :



Ця реакція складає основну ланку в спиртовому бродінні

Оскільки накопичення гліцерину відбувається лише на початку бродіння, то його вихід дуже низький і його можна віднести до побічних продуктів бродіння. Однак якщо в середовище додати сульфіти, що зв'язують оцтовий альдегід, то вихід гліцерину різко зростає і виникає **гліцеринове бродіння** $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \rightarrow \text{CH}_2\text{OHCHONCH}_2\text{OH} + \text{CH}_3\text{CHO} + \text{CO}_2 + \text{ен}$

Цей тип видозміненого спиртового бродіння має важливе технічне значення при отриманні гліцерину з цукру за допомогою дріжджів.

Поряд з етиловим спиртом в зброженному субстраті виявляються ще й вищі спирти, що називаються **сивушними маслами**. Їх утворення пов'язано з розкладом амінокислот, які використовують дріжджі в якості джерела азоту.

Спиртове бродіння широко використовується при виноробстві, пивоварінні, винокурінні та хлібопеченні. Дріжджі, що використовуються у цих виробництвах, поділяють на дріжджі **верхового** і **низового** бродіння.

Перші з них характеризуються активним бродінням, а другі з самого початку осідають на дно і їх бродіння в'яле. Більша частина дріжджів, що використовуються при винокурінні і випіканні хліба – верхового бродіння.

Виноробство. На відміну від цих виробництв, у виноробстві дріжджі не відгравали такої важливої ролі. Тут вирішальним є якість сусла. Основна маса вина отримувалася шляхом самозброджування сусла за участі випадкових дріжджів, що є на поверхні ягід винограду. Однак нині використовують чисті культури дріжджів і у виноробстві. Так бродіння виноградного соку відбувається більш активно. Завдяки цьому отримують вина з відмінним «букетом».

Особливо важливим є використання чистих культур дріжджів при

виробництві шипучих вин, де потрібні стійкі до спирту та вуглекислоти раси.

Хлібопекарська промисловість. Тут спиртове бродіння використовується для підйому та роз рихлення тіста, оскільки воно супроводжується виділенням великої кількості CO_2 . З 1 кг зброженого цукру отримаємо 255 л CO_2 . Цей об'єм збільшується вдвічі при температурі випікання хліба, а рахунок чого тісто ще більш розрихлюється і випікається пористий хліб.

Винокуріння. Основною сировиною є крохмаль злаків або картоплі, який піддається гідролізу амілазою солода до мальтози. Отримується багата на поживні речовини маса, що слугує для розвитку багатьох мікроорганізмів. Для створення більш сприятливих умов, в середовище додають не лише дріжджі, а й молочнокислу мікрофлору. Завдяки цьому обмежується розвиток гнилісної мікрофлори, а вуглеводи середовища зброджуються до виділення спирту.

Пивоваріння. Тут раси дріжджів мають більш важливе значення, оскільки від них залежить утворення речовин, що надають пиву особливого смаку та аромату.

4. Молочнокисле бродіння. Хімізм, збудники, значення

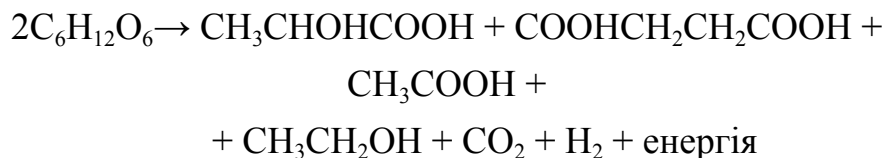
Молочнокисле бродіння - процес анаеробного окислення вуглеводів, що викликається специфічною групою мікроорганізмів. Кінцевим продуктом при виступає молочна кислота. Серед побічних продуктів бродіння є оцтова кислота, вуглекислий газ, етиловий спирт.

Існує три типи молочнокислого бродіння:

1. **Гомоферментативне** молочнокисле бродіння, при якому з глюкози утворюється тільки молочна кислота:



Гетероферментативне молочнокисле бродіння, коли з глюкози, крім молочної кислоти, синтезується етиловий спирт, бурштинова та оцтова кислоти:



2. **Біфідобродіння**, котре викликають біфідобактерії, при якому з глюкози утворюється оцтова і молочна кислоти?



Часто в середовищах, де бродіння відбувається завдяки молочнокислим бактеріям (*Streptococcus cremoris* *Leuconostoc cremoris*), накопичуються невеликі кількості ацетоїну і диацетилю – речовин, які мають своєрідний приємний аромат. Цей аромат передається продуктам, в яких розвиваються зазначені бактерії. Крім глюкози, молочнокислі бактерії

зброджують велику кількість цукрів: фруктозу, галактозу, манозу, сахарозу, лактозу, мальтозу і пентози.

Гомоферментативне молочнокисле бродіння здійснюють бактерії родів *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Aerococcus*, *Lactobacillus*.

Бактерії роду *Streptococcus* представляють собою круглі чи злегка овальні клітини діаметром від 0,5-0,6 до 1 мкм, розташовані поодинокі, парами або ланцюжками. Глюкозу зброджують з утворенням в основному молочної кислоти. Вони поширені на рослинах, у ґрунті, а також у молоці та інших субстратах і використовуються в ряді харчових виробництв.

Промислове значення мають наступні види: *S. lactis* (молочнокислий стрептокок), *S. cremoris* (вершковий стрептокок), *S. diacetylactis*, *S. thermophilus*,

Гетероферментативне молочнокисле бродіння здійснюють бактерії родів *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*.

Бактерії роду *Leuconostoc* мають вигляд сферичних або частіше сочевицеподібних клітин, що розташовуються поодинокі, парами або короткими ланцюжками, грампозитивні, спор не утворюють, факультативні анаероби, оптимум температури 20-30°C. Зброджують моно- і дисахариди. Глюкозу зброджують з утворенням молочної кислоти, етилового спирту і CO₂. На середовищах із сахарозою клітини утворюють товсту зовнішню оболонку із слизу або смолистих речовин – декстранів.

L. mesenteroides і *L. dextranicum* беруть активну участь у зброджуванні вуглеводів при квашенні капусти і силосуванні. *L. mesenteroides* і *L. citrovorum* зброджують лимонну кислоту з утворенням діацетилу, тому вони можуть бути компонентами заквасок, що застосовуються в масло-і сироварінні.

З бактерій роду *Lactobacillus* гетероферментативне молочнокисле бродіння здійснюють бактерії видів *L. fermentum* і *L. brevis*, які зброджують глюкозу з утворенням молочної кислоти, CO₂, оцтової кислоти та етилового спирту. Звичайно ці види зустрічаються на рослинах, виявлені в хлібних заквасках. Це невеликі палички, які мають температурний максимум близько 45°C.

Біфідобродіння. До роду *Bifidobacterium* відносяться бактерії, які мають форму прямих чи розгалужених паличок, роздвоєні V-форми, булавоподібні або лопатоподібні форми. Біфідобактерії – нерухомі грампозитивні анаероби, які не

утворюють спор, оптимум температури для них 36-38°C, глюкозу зброджують головним чином до оцтової і молочної кислот. Типовий представник роду *B. bifidum*. Біфідобактерії мешкають у кишечнику людей, тварин, комах. Встановлено, що *B. bifidum* складає від 50 до 90% мікробного вмісту фекалій людини.

Молочнокислі бактерії мають величезне практичне значення, їх широко використовують при виготовленні кисломолочних та квашених продуктів, сирів, кисловершкового масла.

У виробничих умовах різні кисломолочні продукти готують внесенням у пастеризоване молоко відповідних чистих культур бактерій. Молочнокислі бактерії відіграють основну роль при виготовленні сирів. Для деяких сирів використовують також пропіоновокислі бактерії, плісєневі гриби. Квашення овочів і силосування кормів відбувається, головним чином, завдяки молочнокислому бродінню цих субстратів. Важливе значення мають молочнокислі бактерії для виготовлення хліба, зокрема житнього. Тут застосовують закваску (шмат старого тіста), що містить молочнокислі бактерії і дріжджі. Головною причиною піднімання хліба є спиртове бродіння, а кислий смак хліба викликаний молочнокислим бродінням, яке також перешкоджає розвитку маслянокислих бактерій.

Окремі молочнокислі продукти готують, використовуючи закваску, яка містить симбіотичні комплекси мікроорганізмів. Наприклад, для приготування кефіру в молоко вносять так звані зерна кефіру, зовні трохи схожі на мініатюрні головки кольорової капусти. Вони містять *Lactobacillus bulgaricus*, дріжджі *Saccharomyces kefir*, які зброджують лактозу. Продуктами бродіння є молочна кислота і спирт. Регулювати їх можна за допомогою температури (більше 20 °C – молочнокисле, нижче 15°C – спиртове). Міцний кефір містить 1% спирту та 1% молочної кислоти. Змішане бродіння також лежить в основі приготування кумису з кобилячого молока. У даному випадку молочнокисле бродіння здійснюється термофільними молочнокислими паличками, близькими до *Lactobacillus bulgaricus*, і дріжджами з роду *Torula*, які зброджують лактозу. Під час бродіння молоко періодично збівують, внаслідок чого казеїновий згусток дробиться. У кумисі накопичується до 2% спирту та більше 1% молочної кислоти.

У зв'язку із здатністю молочнокислих бактерій синтезувати антибіотики (нізин, диплококцин, лактолін, бревін та ін.) і продукувати органічні кислоти, припускають, що ці організми є антагоністами гнильної і хвороботворної кишкової мікрофлори людей і тварин.

Сквашування овочів. Процес квашення овочів має кілька періодів.

Початковий – відбувається дифузія цукрів у розсолі і починається молочнокисле бродіння. Спочатку тут розвивається мішана мікрофлора.

Середній – розвиваються тільки молочнокислі бактерії і нагромаджується молочна кислота.

Кінцевий – розвиток молочнокислих бактерій поступово припиняється внаслідок зростання концентрації молочної кислоти. Продукт цілком законсервовано.

Квашені овочі треба зберігати без доступу повітря, бо інакше на розсолі розвивається грибок *Oidium lactis*, який призводить до зменшення концентрації

молочної кислоти, внаслідок чого починають розвиватися гнильні мікроорганізми, які спричиняють гниття і псують квашені продукти.

Попереднє додавання до заквашуваних овочів чистої культури

молочнокислих мікроорганізмів прискорює процес накопичення молочної кислоти.

Силосування. Цей спосіб виготовлення соковитих кормів дуже поширене, оскільки цей своєрідний спосіб консервування дає змогу зберігати соковиту рослинну масу за будь-якої погоди. При цьому в кормі зберігається більше поживних речовин, ніж при висушуванні на сіно (не втрачаються листки, квіти). За крохмальним еквівалентом поживність корму може знизитися на 50% при сушінні, тоді як при силосуванні – на 5-10%. Силосування також дає змогу використати на корм рештки рослин (бадилля картоплі, буряків).

Кислий силос отримують в результаті розвитку в силосній масі типових і нетипових молочнокислих мікроорганізмів, хоча в період закладки корму в ньому розвивається різноманітна мікрофлора, яка конкурує між собою. Якщо до силосу буде доступ повітря, то будуть розвиватися гнилісні мікроби, якщо ж будуть анаеробні умови – молочнокислі. У цьому випадку вже через 2-3 дні буде переважати молочнокисла мікрофлора, що веде до підвищення вмісту молочної і оцтової кислоти у середовищі, силос буде підкислюватися. Ці кислоти мають добрі смакові якості для тварин і пробуджують у них апетит. Молочнокислі мікроорганізми знижують рН середовища до 4,2 – 4,0, що призводить до відмирання гнилісної мікрофлори. При подальшому зниженні рівня рН відмирає і молочнокисла мікрофлора, а корм самоконсервується.

При силосуванні подрібнену зелену масу завантажують у траншеї, силосні башти або складають у наземні бурти. Є два способи силосування: *гарячий і холодний*.

Гарячий спосіб – рослинну масу не трамбують під час закладання, а на 1-2 дні рихло складають товщиною 1-1,5 м. Внаслідок цього є вільний доступ повітря, розвиваються енергійні мікробіологічні і ферментативні процеси, внаслідок чого температура корму може підніматись до 50 °С. Потім накладають такої ж товщини наступний шар, який також розігрівается, а попередній шар рослин спресовується під вагою верхнього шару. Цей спосіб силосування використовується в окремих випадках, коли на силос використовують грубостеблові і малоцінні корми, оскільки при розігріванні корму відбувається втрата його поживної цінності.

Холодний спосіб силосування застосовують більш широко. Рослинну масу подрібнюють і щільно трамбують, завдяки чому під час дозрівання силосу температура в ньому не піднімається вище 25—35 °С.

До типових молочнокислих бактерій, які відіграють основну роль при силосуванні, належать із гомоферментативних *Streptococcus lactis*, *S. thermophilus*, *Lactobacillus plantarum*; із гетероферментативних — *Lactobacillus brevis*, *Betabacterium breve*.

Оскільки молочна кислота утворюється лише при зброджуванні моноцукрів (глюкоза, фруктоза), то її накопичення залежить від вмісту цих речовин у рослинній масі. Тому в рослинах визначають фактичний вміст цукрі та цукровий мінімум.

Цукровий мінімум – найменша кількість цукрів, яка може при молочнокислому бродінні дати таку кількість молочної кислоти, яка знизить рН середовища до 4,5-4,0.

З врахуванням цукрового мінімуму та вмісту цукру у рослинах всі кормові культури можна поділити на три групи по відношенню до силосування:

1. **Добре силосуються** – кукурудза, сорго, топінамбур, соняшник. У цих культур вміст цукру у рослині переважає цукровий мінімум.

2. **Важко силосуються** – горох, буркун, вика, конюшина. У цих культур вміст цукру у рослині та цукровий мінімум майже однакові.

3. **Не силосуються** – люцерна, соя, бадилля картоплі. У цих культур вміст цукру у рослині нижчий за цукровий мінімум.

Так само, як і при квашенні овочів, у силосуванні розрізняють три послідовні фази:

1. Розвиток змішаної мікрофлори;
2. Домінантний розвиток молочнокислих бактерій (головне бродіння);
3. Припинення розвитку молочнокислих бактерій внаслідок накопичення молочної кислоти і зниження рН до 4-4,2.

Отже, у третій фазі настає консервація силосу. Герметизація і кислотність силосу є основними факторами, які визначають його стійкість під час зберігання.

5. Маслянокисле бродіння. Хімізм, збудники, значення

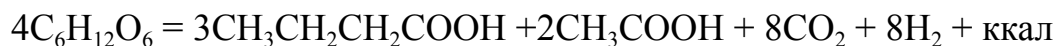
Маслянокисле бродіння – перетворення складних вуглеводів (крохмаль, целюлоза, пектинові речовини) в анаеробних умовах за допомогою мікроорганізмів. Маслянокислі бактерії чутливі до кислотності середовища, оптимальне для них рН=7,0-7,3, оптимальна температура в межах 30-40°C.

Серед маслянокислих бактерій є сапрофітні (*C. pasteurianum*, *C. butyricum*, *C. felsineum*) та патогенні види (*C. botulinum*, *C. tetani*, *C. perfringens*).

Типовий представник масляно-кислих бактерій — *Clostridium butyricum*. Це велика паличка (1—2X10 мкм), в молодому стані вона рухлива. На пізніших стадіях розвитку втрачає джгутики, набуває веретеноподібну форми і нагромаджує усередині клітки запасну живильну речовину — полісахарид гранулезу. *C. butyricum* утворює веретеноподібні спори (інколи вони мають форму барабанної палички). Як джерело вуглецю маслянокислі бактерії можуть використовувати моно- і дисахариди, деякі полісахариди (декстрин, крохмаль), молочну і піровиноградну кислоти, маніт, гліцерин і інші з'єднання. У складних білкових середовищах за відсутності зброджуваного вуглеводу маслянокислі бактерії погано зростають або зовсім не зростають. Джерелом азоту слугують різноманітні речовини — амінокислоти, аміачні з'єднання і навіть молекулярний азот.

Маслянокисле бродіння починається з трансформації цукрів в піровиноградну кислоту шляхом Ембдена — Мейергофа — Парнаса. Кінцеві продукти з піровиноградної кислоти утворюються в результаті ланцюга реакцій, що каталізуються декількома ферментними системами. Процес перетворення піровиноградної кислоти дуже складний. Піровиноградна кислота перетворюється на ацетил-КоА, CO_2 і H_2 за участю ферментної системи — піруват ферредоксиноксидо-редуктази. З ацетил-КоА через ацетилфосфат синтезується оцтова кислота. Утворення масляної кислоти починається з конденсації двох молекул ацетил-КоА, внаслідок чого утворюється ацетоацетил-КоА, який відновлюється до бутиріл-КоА. Масляна кислота виходить з бутиріл-КоА після його гідролізу і перенесення КоА на оцтову кислоту.

Сумарне рівняння маслянокислого бродіння:



В природі маслянокисле бродіння є ланкою перетворень органічних речовин. Але в сільському господарстві та промисловості воно є небажаним. Маслянокислі бактерії є причиною псування овочів, сирів, консервів, при його розвитку в кормах, що заквашуються, білкова частина корму розкладається, а масляна кислота, що накопичується, надає йому неприємного запаху.

Разом з тим масляна кислота потрібна для деяких промислових цілей, наприклад, для одержання ефірів масляної кислоти, що використовують як ароматичні речовини в кондитерській та парфумерній промисловості. Масляну кислоту одержують на заводах, піддаючи бродінню спеціально підготовлені середовища (картоплю, відходи крохмалопаточного чи цукрового виробництва тощо) чистою культурою маслянокислих бактерій.

6. Розклад целюлози та пектинових речовин **маслянокислими** **мікроорганізмами**

До складу целюлози (клітковини) входить більше 50% всього органічного вуглецю біосфери. Целюлоза – найбільш розповсюджений полісахарид рослинного світу; вищі рослини на 15-50% складаються з целюлози.

Мікроорганізми, що її розкладають, відіграють дуже важливу роль у процесі мінералізації і кругообігу вуглецю. В результаті розкладу клітковини та інших органічних речовин в ґрунті утворюється гумус або перегній, який забезпечує родючість ґрунту. Целюлозу розкладають аеробні мікроорганізми (бактерії і гриби) і анаеробні мезофільні і термофільні бактерії.

Група аеробних мікроорганізмів, які розкладають целюлозу, найширше представлена в ґрунті. Особлива роль у процесі розкладу клітковини належить бактеріям роду *Cytophaga*, що були описані С. Н. Виноградським. Це неспороносні, слизисті, тонкі, трохи зігнуті палички,

здатні добре розвиватись тільки на субстратах, що містять клітковину.

Анаеробні бактерії, що розкладають целюлозу, знайдених у природі, відносяться до роду *Clostridium*. Ці бактерії живуть у ґрунтах, компостах, гної, річковому мулі і стічних водах. Вони поширені в нейтральних та кислих ґрунтах. Типовий представник роду – *Clostridium omelianskii*, уперше виділений відомим мікробіологом В. Л. Омелянським. Цей мікроорганізм має паличкоподібну форму, рухливий, мезофіл (розкладає целюлозу при температурі 30-40°C), утворює товсті спори в клітині, тому клітина роздувається і стає схожою на барабанну паличку. Розкласти целюлозу може й інший мезофільний вид *C. cellobioparum*.

Анаеробні бактерії, що розкладають целюлозу, зустрічаються в ґрунті, гної і компостах. Вони є термофілами і дуже активно зброджують клітковину. До них відноситься *C. thermocellum*, оптимальна температура для якого близько 60°C, а максимум наближається до 70°C. При 40- 45°C ця бактерія розвивається погано. **У рубці жуйних тварин** знаходяться специфічні облигатні анаеробні бактерії, що розкладають целюлозу кормів до глюкози, яка потім зброджується з утворенням органічних кислот (оцтової, пропіонової, масляної, молочної, мурашиної, бурштинової й ін.), спиртів і газів (CO_2 і H_2). Розкладання целюлози в рубці тварин здійснюють кокоподібні і паличкоподібні бактерії: *Ruminococcus flavefaciens*, *Ruminococcus albus*, *Bacteroides succinogenes*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Ruminobacter parvum*. Бактерії рубця мають велике значення в травленні жуйних тварин.

Пектинові речовини – це складні полісахариди полігалактуроніди. Бактерії і гриби можуть розкласти пектинові речовини в аеробних і анаеробних умовах. У ґрунті присутня значна кількість таких мікроорганізмів – до 1 млн. клітин на 1 г ґрунту.

Продукти розпаду пектинової кислоти піддаються подальшому окислюванню або зброджуванню різноманітними мікроорганізмами. Зокрема, при анаеробних умовах вони зброджуються маслянокислими бактеріями, які відносяться до роду *Clostridium* (*C. pectinovorum*, *C. felsineum*) та іншими. Продуктами бродіння *C. pectinovorum* є масляна й оцтова кислоти, а також H_2 і CO_2 . *C. felsineum*, крім зазначених речовин, утворюють і невелику кількість ацетону і бутилового спирту. В анаеробних умовах пектин розкладають також гриби.

Пектинове бродіння спостерігається при замочуванні лубоволокнистих рослин

– льону, коноплі, кенафу, джуту, канатника та інших. Целюлозні волокна цих рослин, які мають промислове значення, склеєні з навколишніми тканинами пектином. Після розкладання пектину бактеріями стає можливим відділення волокон.

7. **Ацетонобутилове бродіння. Хімізм, збудники, значення** Ацетонобутилове бродіння близьке до маслянокислого. В результаті цього бродіння в якості основних кінцевих продуктів трансформації вуглеводів

одержують ряд цінних сполук:

Бутиловий
спирт $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$

Етиловий спирт
 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$

Ацетон CH_3COCH_3 ,

Ізопропіловий спирт
 $\text{CH}_3\text{CHONCH}_3$, Оцтову
кислоту CH_3COOH

Масляну кислоту $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$. Виділяються також CO_2 та H_2 . Збудник цього бродіння — *Clostridium acetobutylicum* – рухливі анаеробні спороутворюючі палички, які зазвичай розміщуються попарно, активно зброджують крохмаль та інші вуглеводи, крім клітковини..

Загальна схема ацетонобутилового бродіння має такий вигляд:
 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \rightarrow \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH} + \text{CH}_3\text{COCH}_3 + \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$
 $\text{CH}_3\text{CHONCH}_3 +$

$\text{CH}_3\text{COOH} + \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH} + \text{CO}_2 + \text{H}_2$

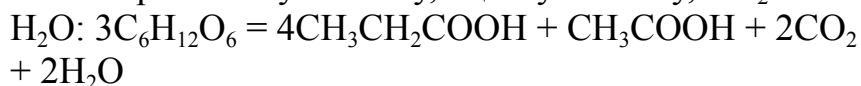
Ацетонобутилові бактерії значно вимогливіші до умов середовища організми, чому маслянокислі. Вони потребують готових амінокислот і вітамінів. Характер кінцевого продукту цього бродіння обумовлюється як видовою приналежністю мікроорганізму, так і зовнішніми умовами: складом живильного середовища, рН і температурою.

Ацетонобутилове бродіння використовують у промисловості для одержання ацетону і бутилового спирту. При цьому субстратом є крохмалиста сировина і меляса. Після відгонки ацетону і спирту з бражки відхід, що залишається (барду), використовують для отримання рибофлавіну (вітаміну B_2), який продукується ацетонобутиловими бактеріями. Ацетон застосовують для виробництва штучного шовку й шкіри, фотографічних плівок, штучного цементу й інших продуктів. Бутиловий спирт використовують у виробництві лаків. Гази, що утворюються при ацетонобутиловому бродінні, ідуть на синтез метилового спирту CH_3OH .

8. Пропіоновокисле бродіння. Хімізм, збудники,

значення Пропіоновокисле бродіння – це процес перетворення цукру або молочної

кислоти на пропіонову кислоту, оцтову кислоту, CO_2 та



При пропіоновокислому бродінні, залежно від умов, піровиноградна кислота може окислюватись до оцтової кислоти і CO_2 , відновлюватись до молочної кислоти, карбоксилуватись до щавлевооцтової кислоти. Пропіонова кислота може утворюватись або відновленням піровиноградної і молочної кислот, або декарбоксилуванням янтарної (бурштинової) кислоти.

Пропіоновокисле бродіння спричиняють бактерії родини

Propionibacteriaceae, кудивідноситься рід **Propionibacterium**, за своїми властивостями вони близькі до молочнокислих бактерій і часто розвиваються разом з ними. Пропіоновокислі бактерії – це нерухливі, грампозитивні, неспороносні палички. Вони є факультативними анаеробами, вимогливі до складу поживного середовища (потребують джерела азоту, вітамінів). Крім цукру та молочної кислоти, вони зброджують піровиноградну кислоту та гліцерин, здатні дезамінувати амінокислоти з утворенням жирних кислот.

Пропіоновокислі бактерії здатні зброджувати молочну кислоту, що утворилася в результаті бродіння під дією інших бактерій, перетворюючи її на пропіонову і оцтову кислоти, тому воно є одним з важливих процесів при визріванні сирів. При розвитку в сирній масі пропіоновокислих бактерій молочна кислота, що утворюється молочнокислими бактеріями, перетворюється на пропіонову кислоту, оцтову кислоту та CO₂, який є причиною виникнення в сирі "вічок" – порожнинок. Присутність у сирі пропіонової та оцтової кислот обумовлює його своєрідний смак та запах.



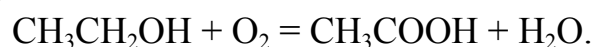
Пропіоновокислі бактерії у великих кількостях виявляють і в травному тракті жуйних тварин. У рубці є бактерії, які гідролізують целюлозу з утворенням глюкози. Остання потім перетворюється на молочну кислоту і інші речовини. Пропіоновокислі бактерії зброджують глюкозу і молочну кислоту в пропіонову і оцтову кислоти, які всмоктуються в кровоносну систему тварини.

Пропіонова кислота та її солі є інгібіторами плісень і використовуються для запобігання пліснявіння продуктів. Деякі пропіоновокислі бактерії (*Propionibacterium acidipropionici*, *P. shermanii*) використовуються для одержання ціанкобаламіну (вітаміну B₁₂).

Окислення етилового спирту до оцтової кислоти.

Біохімічну природу цього процесу встановив Л.Пастер у 1862 р. Оцтовокислі бактерії — грамнегативні, неспороносні, строго аеробні, в основному рухливі палички. Вони трапляються в ґрунті, воді, на поверхні рослин — повсюдно. Це кислотостійкі бактерії, деякі види можуть розвиватися при pH=3,2. Відомо близько 20 видів оцтовокислих бактерій. Найважливішими з них є ***Acetobacteraceti***, ***Acetobacterpasteurarium***, ***Acetobacterorleanense***, ***Acetobacterxylinum***.

Характерною особливістю цих бактерій є перетворення етилового спирту на оцтову кислоту:



Acetobacteraceti нагромаджує в середовищі до 6% оцтової кислоти,

Acetobacterorleanense — до 9,5%, а ***Acetobacterschutzenbachii*** — до 11,5.

Оцтовокислі бактерії мають здатність окислювати не лише етиловий спирт, а й пропіловий — у пропіонову кислоту, бутиловий — у масляну кислоту, а деякі з них можуть окислювати глюкозу до глюконової кислоти. Особливої уваги заслуговує процес окислення цими бактеріями шестиатомного спирту сорбіту до сорбози, яка далі використовується для синтезу аскорбінової кислоти.

Оцтовокислі бактерії використовуються для промислового виробництва оцту. Є два способи виробництва оцту.

Повільний — перетворення вина на оцет. За цим способом, підкислене оцтом і розведене водою вино розливають у чани і залишають на повітрі. Через певний час на поверхні вина утворюється плівка з оцтовокислих бактерій, які окислюють спирт, і вино перетворюється на оцет.

Швидкий спосіб виробництва оцту. Сировиною для нього є оцтовоспиртовий розчин, який заливають у спеціальні чани-генератори; для живлення бактерій сюди ж додають фосфатні й амонійні солі. У середовище вносять чисті культури *Acetobacterschutzenbachii*, *A. aceti*. Всередині чанів укладають згорнуті рулони букових стружок. В міру протікання субстрату по стружках бактерії, що населяють стружки, окислюють спирт в оцтову кислоту, яка нагромаджується в нижній частині апарата. Заряджений генератор працює безперервно протягом багатьох місяців.

Разом із цим слід зазначити, що оцтовокислі бактерії можуть завдавати значної шкоди, якщо потрапляють у напівфабрикати і готову продукцію, тим самим призводячи до їх псування. Вони є небажаними у спиртовому, пивоварному, дріжджовому, хлібопекарському та інших виробництвах

Д\3 Опрацювати тему.