

Пищевая микробиология 4
Физиология микроорганизмов

Мудрецова - Висс

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ МИКРООРГАНИЗМОВ

Для понимания процессов обмена веществ у микроорганизмов и их потребностей в пище необходимо знать химический состав их тела. Состав веществ микроорганизмов в принципе мало отличается от химического состава тела животных и растений. Важнейшими компонентами клетки являются белки, нуклеиновые кислоты, липиды. Универсальны многие ферменты строительного и энергетического обменов. Потребность микроорганизмов в питательных веществах определяется в основном элементарным составом их клеток.

Важнейшими химическими элементами, преобладающими в клетках микроорганизмов, являются углерод, кислород, водород, азот, сера, фосфор, калий, магний, кальций и железо. Первые четыре из указанных элементов составляют основу органического вещества, поэтому называются органогенными элементами. Они составляют 90–97% сухого вещества. Другие элементы называют зольными или минеральными, на долю которых приходится 3–10%. Из них больше всего содержится фосфора, который входит в состав важных веществ клетки (нуклеиновых кислот, АТФ и др.).

В клетках микроорганизмов находятся, хотя и в крайне малых количествах, микроэлементы: медь, цинк, марганец, молибден и многие другие. Некоторые микроэлементы входят в состав ферментов.

Соотношение отдельных химических элементов заметно колеблется в зависимости от вида микроорганизма и условий его роста. Среднее количество отдельных

Вода. Вода составляет 75–85 % массы клеток. Она имеет важное значение в жизни организма. Все вещества поступают в клетку только с водой, с ней же удаляются и продукты обмена.

Часть воды в клетке находится в связанном состоянии (с белками, углеводами и другими веществами) и входит в клеточные структуры.

Остальная вода находится в свободном состоянии: она служит дисперсной средой для коллоидов и растворителем различных органических и минеральных соединений, образующихся в клетке при обмене веществ. Вода – участник многих химических реакций, протекающих в клетке.

Содержание свободной воды в клетке изменяется в зависимости от условий внешней среды, физиологического состояния клетки, ее возраста

Белковые вещества являются основными компонентами клетки. Содержание их у бактерий достигает 40–80 % сухого вещества, у дрожжей – 40–60, у грибов–15–40%.

Белкам принадлежит важнейшая роль в жизни организма. Аминокислотный состав белков микроорганизмов сходен с белками других организмов. Различное сочетание аминокислот создает огромное количество белков, обуславливающих все разнообразие организмов.

Некоторые белки выполняют каталитические функции, катализируют различные биохимические реакции, протекающие постоянно в микробной клетке. Такие белки называют ферментами (подробно см. с. 48).

Многие микроорганизмы накапливают большое количество белков в клетке. Считают, что микроорганизмы можно рассматривать в качестве возможных продуцентов пищевого и кормового белка

Рентабельность промышленного производства таких белковых продуктов определяется быстротой накопления биомассы микроорганизмов и использованием для их выращивания дешевого недефицитного сырья. Сырьем может служить гидролизат древесины или других растительных материалов, отходы пищевой, нефтеперерабатывающей и других отраслей промышленности. В СССР такой белок получают из дрожжей, некоторых бактерий, водоросли хлореллы и используют его в животноводстве и птицеводстве. В последние годы внимание микробиологов обращено на цианобактерии (сине-зеленые водоросли), некоторые из которых синтезируют большое количество белка. Многие страны мира получают в промышленном масштабе биомассу цианобактерии спирулины для использования в питании человека

В клетке микроорганизмов содержатся нуклеиновые кислоты (ДНК и РНК). Молекула нуклеиновой кислоты представляет собой длинную цепь, которая состоит из многих элементарных единиц, называемых нуклеотидами. В состав каждого нуклеотида входят молекула фосфорной кислоты, молекула углеводного компонента (пентозы или дезоксирибозы) и одного азотистого основания (пуринового или пиримидинового).

ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота) содержит дезоксирибозу и азотистые основания: аденин, гуанин, цитозин, тимин. В молекуле ДНК закодирована вся наследственная информация клетки, «записаны» все особенности будущего организма, выработанные в процессе длительной эволюции и свойственные данному виду. Через ДНК наследственные особенности передаются потомкам. ДНК сосредоточена главным образом в ядре клеток или в его аналоге – нуклеоидах бактериальных клеток.

Углеводы входят в состав различных мембран клеток микроорганизмов. Они используются для синтеза различных веществ в клетке и в качестве энергетического материала. Углеводы могут откладываться в клетке в виде запасных питательных веществ. В клетках большинства бактерий углеводы составляют 10–30% сухого вещества, у грибов – 40 – 60%.

В теле микроорганизмов углеводы встречаются преимущественно в виде полисахаридов – гликогена, гранулезы (углевод, близкий к крахмалу), декстрина, клетчатки или близких ей соединений. Полисахариды находятся и в связанном состоянии с белками, липидами. Липиды в клетках большинства микроорганизмов составляют 3–10 % сухого вещества. Лишь у некоторых дрожжей и плесеней количество липидов может быть значительно выше – до 40–60%. Липиды входят в состав цитоплазматической мембраны и в состав других мембран, а также

Структура и свойства ферментов. Ферменты представляют собой белки простые (протеины) или сложные (протеиды), состоящие из белка и небелкового компонента, называемого протостетической (активной) группой. Таким образом, есть ферменты однокомпонентные и двухкомпонентные.

В состав протестетической группы ферментов входят витамины или их производные, различные металлы (Fe, Co, Si), азотистые основания и др.

Протестетическая группа ферментов обуславливает их каталитическую способность, а белковая часть – специфические свойства,

Ферменты обладают очень высокой активностью. Ничтожно малого количества фермента достаточно, чтобы вовлечь в реакцию значительную массу реагирующего вещества (субстрата). Например, грамм амилазы при благоприятных условиях может превратить в сахар тонну крахмала.

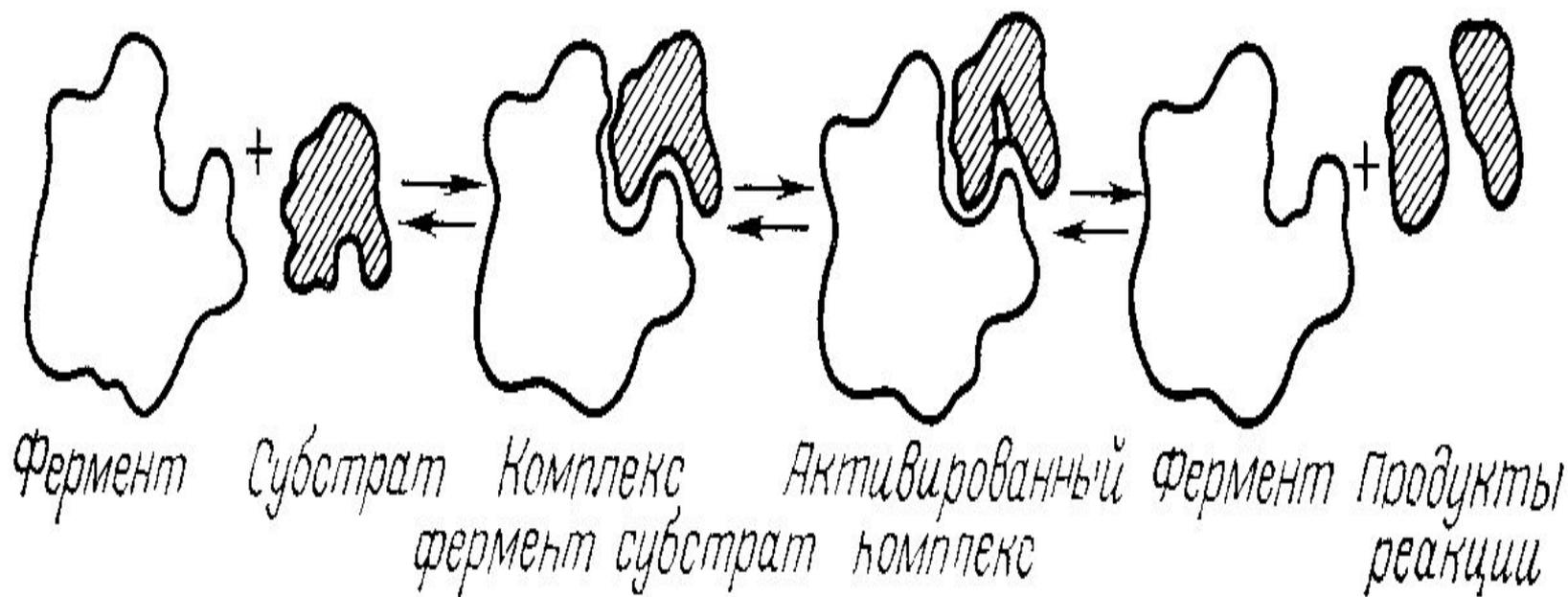
Ферменты действуют чрезвычайно быстро, резко ускоряя реакцию. Молекула фермента за минуту может вызвать превращение десятков и сотен тысяч молекул соответствующего субстрата.

Характерной особенностью ферментов, отличающей их от неорганических катализаторов, является субстратная специфичность и специфичность действия – каждый фермент взаимодействует лишь с одним определенным веществом и катализирует лишь одно из тех превращений, которым может подвергаться данное вещество. Например, фермент лактаза вызывает расщепление только молочного сахара (лактозы) на глюкозу и галактозу и не действует на другие углеводы.

Специфичность ферментов обусловлена структурными особенностями молекул фермента и субстрата. Субстрат и фермент подходят друг к другу, как ключ к замку.

Катализируемая ферментом реакция начинается со связывания субстрата с белковой частью фермента в определенном участке ее – активном центре. Образуется комплекс фермент-субстрат. По окончании реакции образовавшийся комплекс фермента с продуктами реакций распадается с освобождением исходного фермента и конечных продуктов ферментативного процесса (рис. 18).

Рис. 18. Схема взаимодействия фермента с субстратом



Большое влияние на ход ферментативных процессов оказывает рН среды. Для одних ферментов лучшей является среда со слабокислой реакцией, для других – со слабощелочной реакцией. Для действия каждого фермента имеется свое оптимальное значение рН среды. При значении рН выше или ниже оптимальной величины активность ферментов снижается.

На активность ферментов влияет и присутствие в среде некоторых химических веществ. Одни из них ускоряют ферментативную реакцию (активаторы), другие способны снижать ее или полностью приостановить (ингибиторы). Действие многих активаторов и ингибиторов специфично. Активаторами ферментов являются металлы (Сi, Ni, Mg, Co) и некоторые органические вещества, например витамины. Ингибиторами ферментов служат соли тяжелых металлов, антибиотики, H_2S и др. Сущность действия ингибиторов состоит в том, что они соединяются с активными группами или активными центрами ферментов, парализуя тем самым

Некоторые ферменты выделяются микроорганизмами наружу (в среду); их принято называть экзоферментами. Они играют большую роль в подготовке пищи к ее поступлению в клетку. Происходит внеклеточное «переваривание» пищи – расщепление сложных веществ субстрата (крахмала, белков и др.) на более простые, способные проникать в клетку.

Хотя ферменты вырабатываются клеткой, но и после ее смерти временно остаются в активном состоянии и может произойти автолиз (от греч. autos– сам, lysis– растворение) – саморастворение, или самопереваривание, клетки под влиянием внутриклеточных ферментов. При разрушении клеток ферменты поступают в среду – в субстрат, в котором развивались микроорганизмы. При хранении пищевых продуктов, значительно обсемененных микроорганизмами, даже в условиях, исключающих их развитие, возможно снижение качества продуктов за счет ферментов автолизированных микробных клеток.

В соответствии с принятой в настоящее время классификацией ферментов (Правила номенклатуры ферментов, 1972) все ферменты делят на 6 классов: 1–оксидоредуктазы; 2 – транс-феразы; 3 – гидролазы; 4 – лиазы; 5 – изомеразы; 6 – лигазы. Классы подразделяют на подклассы, которые делят на под-подклассы. Каждый фермент имеет название и шифр из четырех цифр. Первая цифра обозначает класс, вторая – подкласс, третья – подподкласс, четвертая – порядковый номер данного фермента.

В настоящее время известно более 1000 ферментов.

Использование микробных ферментов

Человек издавна использовал ферментативную активность микроорганизмов. Широкое применение микроорганизмов в пищевых производствах основано на использовании их ферментативной деятельности в перерабатываемом пищевом сырье. Культуры микроорганизмов можно заменить ферментами, выделив их в виде препаратов из клеток или культуральной среды. Применение ферментов в пищевой и легкой промышленности позволяет значительно интенсифицировать технологический процесс, повысить выход и улучшить качество готовой продукции.

1. Микроорганизмы обладают богатым «ассортиментом» ферментов. Среди них есть такие, которые отсутствуют у животных и в растениях.
2. Микроорганизмы быстро размножаются и в течение короткого времени дают огромную массу клеток, из которых (или из культуральной среды) можно выделить большое количество фермента.
3. Микроорганизмы растут на относительно дешевых субстратах, например на отходах различных промышленных производств.
4. Управлять развитием микроорганизмов при современном аппаратурном оформлении таких производств значительно легче и проще, чем выращивать растения и животных.

Препараты грибных амилолитических ферментов применяют при производстве этилового спирта из крахмалсодержащего сырья вместо зернового солода; в хлебопекарной промышленности – взамен солода при изготовлении заварного ржаного хлеба; добавляют грибные амилазы и в пшеничное тесто. Поскольку в этом препарате помимо амилазы имеются, хотя и в небольшом количестве, другие ферменты (мальтаза, пептидазы), процесс изготовления теста ускоряется: увеличивается объем и пористость хлеба, улучшаются его внешний вид, аромат, вкус.

Применение этих ферментных препаратов в пивоварении позволяет частично заменить солод несоложенным (не подвергшимся прорастанию) ячменем. С помощью грибной глюкоами-лазы получают глюкозную патоку и кристаллическую глюкозу из крахмала.

Пектолитические грибные ферментные препараты используют в соко-морсовом производстве и виноделии. В результате разрушения пектина этими ферментами ускоряется процесс выделения сока, повышается его выход, улучшается фильтрация и осветление соков.

Ферментные препараты, содержащие микробные пептидазы, применяют для повышения стойкости (предохранения от белкового помутнения) вина и пива; в сыроделии взамен (частично) сычужного фермента. Целесообразно применять микробные пептидазы для размягчения мяса, ускорения созревания мяса и сельди, получения из отходов рыбной и мясной промышленности пищевых гидролизатов и в других технологических процессах переработки животного и растительного

Поступление питательных веществ в клетку

Поступление питательных веществ и воды в клетку, а также выделение продуктов обмена в окружающую среду происходят у микроорганизмов через всю поверхность их тела.

Возможность проникновения веществ извне в клетку обусловлена многими факторами: величиной и структурой их молекул; способностью растворяться в компонентах цитоплазматической мембраны; концентрацией веществ в клетке и в среде; свойствами клеточной стенки и цитоплазматической мембраны, являющихся барьерами, через которые должны проникнуть в клетку питательные вещества, и др.

Вещества питательной среды могут поступать в клетку только в растворенном состоянии. Нерастворимые сложные органические соединения должны подвергнуться расщеплению на более простые вне клетки, что происходит с помощью экзоферментов

Клеточная стенка (оболочка) проницаема и задерживает лишь макромолекулы. Цитоплазматическая мембрана обладает полупроницаемостью, она является осмотическим барьером; проницаемость ее для различных веществ неодинаковая.

Ранее (см. с. 44) указывалось, что до 90 % и более сухой массы клеток микроорганизмов составляют четыре химических элемента – водород, кислород, углерод и азот, входящие в состав важнейших веществ клетки.

Кислород и водород все микроорганизмы получают из воды. Потребности различных микроорганизмов в отношении источников углерода и азота весьма разнообразны.

Источники углерода. В зависимости от используемого в конструктивном обмене источника углерода микроорганизмы делят на две группы: автотрофы и гетеротрофы.

Автотрофы¹ в качестве единственного источника углерода для синтеза органических веществ тела используют углекислоту (CO_2).

Гетеротрофы² не могут использовать в качестве источника углерода только углекислый газ; они нуждаются в готовых органических соединениях.

Соответственно по источнику углерода различают и типы питания: автотрофный и гетеротрофный.

Автотрофы для превращения не имеющей энергетической ценности углекислоты в органические вещества нуждаются в постороннем источнике энергии.

Большинство питательных веществ поступает в клетку путем переноса их через мембрану специфическими переносчиками– пермеазами (от англ. permeable– проницаемый), локализованными в цитоплазматической мембране. Пермеазы сходны с ферментами; они обладают субстратной специфичностью – каждая транспортирует определенное вещество. На внешней стороне цитоплазматической мембраны пермеаза адсорбирует вещество – вступает с ним во временную связь и диффундирует комплексно через мембрану, отдавая на внутренней стороне ее транспортируемое вещество в цитоплазму.

ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН У МИКРООРГАНИЗМОВ

Описанные выше процессы конструктивного обмена – синтез веществ клетки из поступивших в нее извне питательных веществ, активный перенос этих веществ через цитоплазматическую мембрану и многие другие процессы жизни – протекают с затратой энергии.

Источники энергии у микроорганизмов разнообразны.

У фотоавтотрофов источником энергии служит видимый свет. Световая энергия, улавливаемая фотоактивными пигментами клетки в процессе фотосинтеза, трансформируется в химическую энергию, обеспечивающую энергетические потребности клетки.

Источником энергии для биосинтеза клеточных веществ из CO_2 у хемоавтотрофов является химическая энергия, высвобождаемая в результате окисления кислородом воздуха неорганических соединений (NH_3 , H_2S и др.).

Окисление органических веществ может происходить различными путями:

1. Прямым, т. е. присоединением к веществу кислорода.
2. Непрямым, т. е. дегидрогенированием (отнятием водорода). Отнятый от окисляемого вещества водород переносится на другое вещество, которое при этом восстанавливается.
3. Путем переноса электронов (e^-) от одного вещества к другому. Вещество, теряющее электроны, окисляется, а присоединяющее их – восстанавливается.

Вещество, отдающее водород (электроны), называется донором, а вещество, присоединяющее их, – акцептором.

Биологическое окисление (в клетках) органических веществ происходит чаще путем дегидрогенирования. Так как атом водорода состоит из протона (H^+) и электрона (e^-), перенос водорода с одного вещества на другое включает и перенос электрона.

Перенос водорода (электрона) от подвергающегося окислению вещества к акцептору осуществляется различными окислительно-восстановительными ферментами.

Реакцию окисления – восстановления можно изобразить следующим образом:



Конечным акцептором водорода может быть кислород воздуха или другое вещество, способное восстанавливаться.

В зависимости от конечного акцептора водорода хемоорганотрофные микроорганизмы делят на две группы: аэробы, окисляющие органические вещества с использованием молекулярного кислорода, который и является конечным акцептором водорода; анаэробы, которые в энергетических процессах не используют кислород. Конечными акцепторами водорода служат органические или неорганические соединения.

Аэробные микроорганизмы

Многие аэробные микроорганизмы, к которым относят грибы, некоторые дрожжи и многие бактерии, подобно высшим организмам (растениям, животным), окисляют органические вещества полностью до минеральных веществ – углекислого газа и воды. Процесс этот называется дыханием.

В качестве энергетического материала в процессе дыхания микроорганизмы часто используют углеводы. При этом сложные (ди-, три- и полисахариды) ферментативным путем гидролизуются до моносахаров, которые и подвергаются окислению.

Этот процесс в общем виде может быть представлен следующим уравнением:

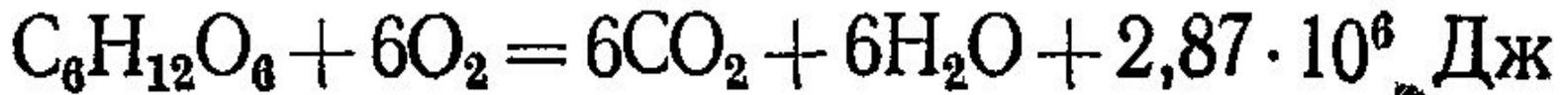
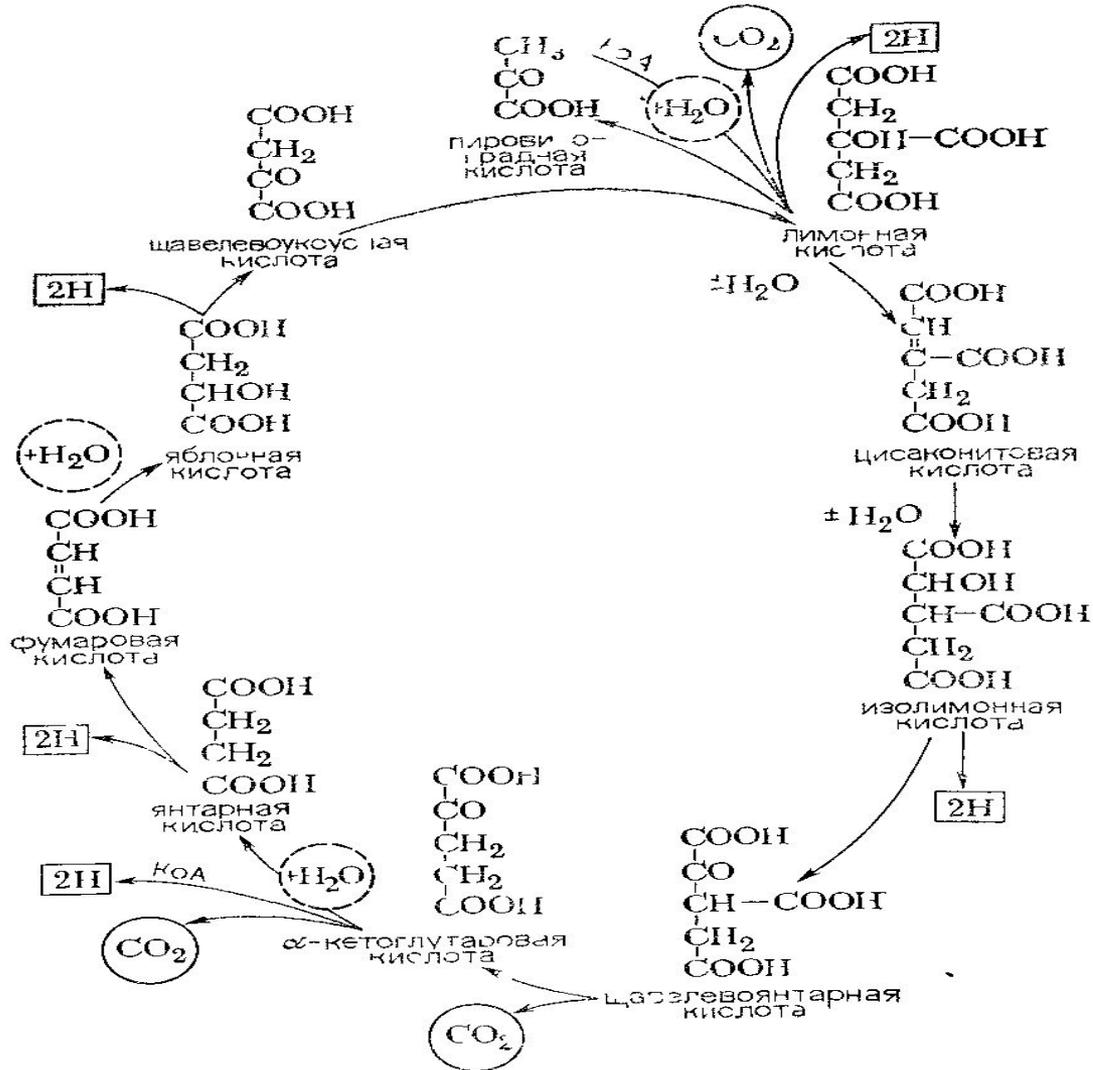


Рис. 21. Цикл Кребса



Спиртовое брожение осуществляется многими дрожжами в анаэробных условиях. Молекула глюкозы (энергетический материал) в этом процессе превращается в две молекулы этилового спирта и две молекулы углекислого газа с выделением энергии.

В молекуле спирта заключено энергии $1,37 \cdot 10^6$ Дж. Как видно из уравнения, освобождается только часть энергии, много ее остается в уксусной кислоте.



Анаэробные микроорганизмы

Анаэробные микроорганизмы, к которым относят многие бактерии и некоторые дрожжи, получают необходимую для жизнедеятельности энергию в процессе брожения. Этот энерго-дающий процесс протекает также путем сопряженного окисления-восстановления, но без участия кислорода воздуха. Конечным акцептором водорода, отнятого от окисляемого органического вещества, служат органические вещества – промежуточные продукты распада используемого субстрата.

Анаэробные микроорганизмы подразделяют на облигатные, или безусловные, анаэробы, для которых кислород не только не нужен, но и вреден, и факультативные, или условные, анаэробы, которые могут жить как при доступе воздуха так и без него

Энергетическим материалом при брожении чаще служат углеводы, из них наиболее используемый – глюкоза.



Рассмотренные процессы (дыхание, брожение) следует расценивать не только как процессы, обеспечивающие организм энергией. Многие промежуточные продукты распада углеводов служат исходным материалом для синтеза важнейших компонентов клетки (белков, нуклеиновых кислот, липидов и др.).

Важным поставщиком промежуточных продуктов для биосинтетических процессов является цикл Кребса. Многие кето-кислоты, образующиеся в этом цикле превращений ди- и три-карбоновых кислот, путем аминирования и переаминирования превращаются в различные аминокислоты, из которых далее синтезируются белки.