

*Микробиологические
методы
очистки воды
Лекция 8*

Химический состав микроорганизмов-деструкторов

Физиологические процессы в микробной клетке тесно связаны с её химическим составом, который в общих чертах сходен с таковым всех других групп живых организмов. Так, основными "строительными блоками" у микроорганизмов, как и у других живых организмов, являются белки, углеводы, липиды, нуклеиновые кислоты, а также вода и зольные вещества.

Основными классами химических веществ, входящих в состав микроорганизмов, являются:

- 1) Белки (в том числе, ферменты).
- 2) Углеводы.
- 3) Липиды.
- 4) Нуклеиновые кислоты и нуклеотиды.

Средь органических веществ в микробной клетке белки занимают первое место и их содержание зависит от вида микроорганизма и состава питательной среды.

Белки клеток микроорганизмов функционируют в определенных пределах значений рН, температуры, концентраций химических веществ в окружающей среде. Воздействия за пределами физиологических значений этих факторов приводят к утрате трехмерной конформации белковых молекул, то есть к денатурации, и, соответственно, к утрате белками их функций. Причинами, вызывающими денатурацию белков, могут быть высокая температура, низкие и высокие значения рН (в присутствии сильных кислот и оснований), приложение кинетической энергии (интенсивное перемешивание и встряхивание), воздействие излучений (инфракрасного, ультрафиолетового и других), присутствие химических веществ, таких как мочевины, гуанидингидрохлорид, соли в высоких концентрациях, детергенты (например, додецилсульфат натрия), ионы тяжелых металлов, органические растворители.

По своему элементному составу белки микроорганизмов богаче других типов органических веществ. Кроме углерода, водорода и кислорода они содержат азот. В некоторых белках содержится сера. Часть белков образует комплексы с другими молекулами, содержащими фосфор, железо, цинк, медь.

Основные компоненты сухой биомассы микроорганизмов

Микроорганизмы	Белки	Углеводы	Липиды	ДНК + РНК	Зольные вещества
Бактерии	50-80	10-30	5-30	10-25	4-12
Актиномицеты	55-70	10-20	5-40	4-12	6-10
Дрожжи, выращенные по белковому режиму	45-60	12-25	2-6	5-12	6-12
Дрожжи, выращенные по липидному режиму	15-30	10-20	20-60	3-8	6-8
Мицелиальные грибы	10-50	20-40	2-7	1-3	4-10
Одноклеточные водоросли	40-60	15-25	2-15	1-5	10-20
Вирусы	40-90	-	0,2-1,0	10-60	-

Факторы, вызывающие денатурацию белков, в том числе, ферментов

№ п/п	Фактор	Объект воздействия в молекуле	Эффект воздействия
Физические факторы			
1.1	Нагревание	Водородные связи	Изменение конформации (агрегация) из-за усиления теплового движения; необратимые изменения ковалентных связей (например, дисульфидных)
1.2	Охлаждение	Гидрофобные связи, сольватированные группы	Нарушение структуры растворителя, дегидратация (агрегаты, неактивные мономеры)
1.3	Механические силы	Сольватированные группы, пустоты	Изменение сольватации, разрушение пустот, разрыв связей (неупорядоченная конформация, неактивные мономеры)
1.4	Радиация	Функциональные группы (например, пептидные связи, SH-группы)	Уменьшение числа структурообразующих взаимодействий после фотоокисления или атаки свободными радикалами

Факторы, вызывающие денатурацию белков, в том числе, ферментов

№ п/п	Фактор	Объект воздействия в молекуле	Эффект воздействия
Химические факторы			
2.1	Кислоты	Расположенные в глубине молекулы незаряженные группы (например, гистидина), пептидные связи	Снижение числа структурообразующих ионных взаимодействий (неупорядоченный клубок)
2.2	Основания	Расположенные в глубине молекулы незаряженные группы (тирозина, цистеина и др.)	Снижение числа структурообразующих ионных взаимодействий (неупорядоченный клубок)
2.3	Органические соединения, образующие водородные связи	Водородные связи	Уменьшение числа структурообразующих водородных связей между водой и нативной конформацией (неупорядоченный клубок)
2.4	Соли	Полярные и неполярные группы	"Высаливание" полярных групп в растворитель с большей диэлектрической проницаемостью и обратный эффект в отношении неполярных групп (высокоупорядоченные конформации)
2.5	Растворители	Неполярные группы	Сольватация неполярных групп (изменение конформации за счет пептидных связей и спиральных участков).

Факторы, вызывающие денатурацию белков, в том числе, ферментов

№ п/п	Фактор	Объект воздействия в молекуле	Эффект воздействия
Химические факторы			
2.6	Поверхностно-активные вещества (ПАВ)	Гидрофобные участки (для всех типов ПАВ) и заряженные группы (для ионных ПАВ)	Образование частично нарушенных субструктур, в том числе мицеллоподобных участков (частично неупорядоченная конформация, значительные спиральные участки).
2.7	Оксиданты	Функциональные группы (например, в остатках цистеина, метионина, триптофана)	Снижение числа структурообразующих и (или) функциональных взаимодействий (инактивированный фермент).
2.8	Ионы тяжелых металлов	Функциональные группы (например, в остатках цистеина, гистидина и др.)	Маскирование групп, существенных для структуры и функции белка (инактивированный фермент).
2.9	Хелатообразующие агенты	Катионы, необходимые для структуры или функции белка	Замещение лиганда или потеря катиона (инактивированный фермент).

Факторы, вызывающие денатурацию белков, в том числе, ферментов

№ п/п	Фактор	Объект воздействия в молекуле	Эффект воздействия
Биологические факторы			
3.1	Протеазы	Пептидные связи	Гидролиз концевых или внутренних пептидных связей (распад молекулы до олигопептидов и аминокислот).

Содержание воды в биомассе живых организмов

В биомассе живых микроорганизмов содержится 15-30% сухих веществ и около 70-85% воды. В количественном отношении, таким образом вода всегда является преобладающим соединением и важнейшим внутри внеклеточным веществом. В клетке вода находится в свободном и связанном виде. В свободном состоянии находится до 90% воды и она легко удаляется из клетки путем испарения при высушивании.

В воде растворены или находятся в коллоидном состоянии различные органические и минеральные вещества клетки, с её участием протекают процессы обмена веществ, она может служить источником водорода и гидроксидных ионов. Вода обладает рядом весьма необычных свойств (высокой теплотой испарения, высокой диэлектрической проницаемостью, способностью образовывать при диссоциации кислоты и основания, склонные к образованию водородных связей), благодаря которым она является в клетке чрезвычайно важным реагентом, участвующим во многих катализируемых фермент реакциях. Содержание свободной воды в микробной клетке может колебаться в зависимости от условий внешней среды. Потеря большого количества воды нарушает клеточные структуры, обмен веществ и вызывает гибель клетки. Остальная часть воды связана с коллоидными веществами и трудно удаляется из клетки обычными физическими методами.

Элементный состав клеток микроорганизмов. Макроэлементы.

В состав микроорганизмов входят многие химические элементы. Считают, что для жизни им необходимы по меньшей мере 24 химических элемента, но в разных количествах. В относительно высоких концентрациях, как известно, микроорганизмам необходимы десять элементов (макроэлементов), как это следует из состава микробной клетки. Так, микробная клетка содержит: 45-50% углерода, 20-30% кислорода, 7-14% азота, 6-10% водорода, 2-6% фосфора, по 1 % серы и калия, по 0,5% кальция и магния, 0,2% железа и 0,3% - всех остальных элементов.

Углерод, кислород, азот и водород - основные органогены, доля которых в общей массе клетки может достигать 92-98%. Все четыре элемента обладают рядом общих свойств, из которых важнейшее - их способность образовывать ковалентные связи. Среди элементов, обладающих этим свойством, С, Н, О и N самые легкие, что обуславливает самые прочные ковалентные связи, лежащие в основе создания каркасов молекул различных органических веществ.

Азот требуется в больших количествах, поскольку его содержание у бактерий составляет примерно 10% (в расчете на сухую биомассу). Азот входит в состав жизненно важных компонентов микробной клетки - аминокислот, пептидов, белков, нуклеиновых кислот и ряда других веществ.

Сер а обычно потребляется в виде сульфата, восстанавливается до уровня сульфида и затем используется для биосинтетических процессов, в основном для синтеза аминокислот цистеина и метионина и некоторых коферментов. Однако определенные группы бактерий нуждаются в восстановленных соединениях серы. Некоторые метанобразующие бактерии растут только в присутствии сероводорода, и используемого в качестве источника серы. Тиобациллы и ряд фототрофных бактерий нуждаются в сульфиде, элементной сере или тиосульфате в качестве донора электронов.

Фосфор входит в состав нуклеиновых кислот, фосфолипидов, тейховых кислот и таких важнейших нуклеотидов, как АТФ, ГТФ, НАД и ФАД. Большая часть биоактивных фосфорных эфиров находится в клетках в виде комплексов с магнием. Фосфолипиды клеточной стенки бактерии также образуют хелатные комплексы с ионами магния. На фосфор приходится почти половина всей зольной части клетки. В живой клетке фосфор находится окисленной форме, в основном, в виде фосфорных эфиров органических соединений являющихся их реакционно активной формой.

Микробиологические методы очистки воды

Элементный состав клеток микроорганизмов. Макроэлементы.

***Калий** активизирует ферментные системы, ускоряет течение физиологических процессов, участвуя в переносе веществ через цитоплазматическую мембрану.*

***Магний** входит в состав хлорофилла у зеленых и пурпурных серобактерий и у микроводорослей, активизирует карбоксилазу, пептидазу и другие ферменты, а также входит в состав комплексов с фосфатными группами биологически активных соединений, в том числе ДНК.*

***Кальций** входит в состав кальцийсодержащих белков, например экзоферментов амилаз и других, секретируемых клеткой в окружающую среду для гидролиза крахмала и декстринов. Дипиколинат кальция служит важным компонентом бактериальных спор. Высокое содержание в спорах кальция и магния обуславливают связывание воды и образование уплотненной цитоплазмы. в такой среде белки споры не коагулируют, что повышает их устойчивость к высоким температурам.*

***Железо.** Ионы двух- и трехвалентного железа входят в состав компонентов электронпереносящей цепи, таких как дыхательные ферменты цитохромы и железосеропротеиды и ускоряют процессы окисления.*

Элементный состав клеток микроорганизмов. Макроэлементы.

Элемент	Источник	Функции в метаболизме
C O H N	Органические соединения; CO ₂ O ₂ ; H ₂ O; Органические соединения; CO ₂ H ₂ ; H ₂ O; Органические соединения NH ₄ ⁺ ; NO ₃ ⁻ ; H ₂ ; Органические соединения	Основные компоненты клеточного материала
S	SO ₄ ²⁻ ; HS ⁻ ; S ⁰ ; S ₂ O ₃ ²⁻ ; органические соединения	Входит в состав белков (в виде аминокислот цистеина, цистина и метионина), некоторых коферментов (кофермента А, кокарбоксилазы), биотина; липоевой кислоты
P	HPO ₄ ²⁻	Компонент нуклеиновых кислот, фосфолипидов, нуклеотидов (в том числе, АТФ, НАТФ)
K	K ⁺	Основной неорганический катион в клетке; кофактор некоторых ферментов; компонент «калиевого насоса»
Mg	Mg ²⁺	Важный катион клетки; кофактор многих ферментов; присутствует в клеточных стенках, мембранах и эфирах фосфорной кислоты
Ca	Ca ²⁺	Важный катион клетки; кофактор ферментов; присутствует в экзоферментах (в амилазе, в протеазах); Са-дипиколинат является важным компонентом бактериальных эндоспор
Fe	Fe ²⁺ ; Fe ³⁺	Содержится в цитохромах (входит в состав гема), ферродоксинах и других железосеропротеидах, кофактор ферментов (некоторые дегидратазы)

Элементный состав клеток микроорганизмов. Микроэлементы.

Элемент	Источник	Функции в метаболизме
Zn	Zn^{2+}	Содержится в ферментах энергетического обмена (в алкогольдегидрогеназах, в альдолазе, в щелочной фосфатазе), в ферментах биосинтеза белка и нуклеиновых кислот (в РНК- и ДНК-полимеразах)
Mn	Mn^{2+}	Содержится в ферментах детоксикации перекисного радикала (в бактериальных пероксид-дисмутазах), в кофакторах ферментов углеводного обмена (цитрат-синтазы, фосфоенолпируват-карбоксилазы)
Mo	MoO_4^{2-}	Содержится в ферментах обмена азота (в нитратредуктазе, в нитрогеназе), в ферменте энергетического обмена <i>E.coli</i> (в формиат-дегидрогеназе)
Cu	Cu^{2+}	Содержится в ферментах энергетического обмена (в цитохромоксидазе, в оксигеназах)
Co	Co^{2+}	Находится в ферментах – мутазах, катализирующих реакции перегруппировок и содержащих в качестве кофермента витамин В12 (в глутаматмутазае, в метилмалонил-КоА-мутазае)
Ni	Ni^{2+}	Содержится в гидролитических ферментах, расщепляющих мочевину (в уреазе); требуется для автотрофного роста водородных бактерий
Se	$S_2O_3^{2-}$	Содержится в ферментах энергетического обмена (в глицинредуктазе, в формиатдегидрогеназе)
W	WO_4^{2-}	Содержится в некоторых формиатдегидрогеназах
Na Cl	Na^+ Cl^-	Необходимы некоторым бактериям

Основные типы питания у различных групп микроорганизмов

Микроорганизмы	Основные признаки			Группа по типу питания
	источник энергии	источник электронов	источник углерода	
Цианобактерии, пурпурные серные и зеленые серные бактерии, микроводоросли	свет	H_2 ; H_2S ; $S_2O_3^{2-}$; S^0 ; H_2O	CO_2	Фотолитоавтотрофы.
Пурпурные несерные и зеленые несерные бактерии	свет	H_2 ; H_2S ; $S_2O_3^{2-}$	Органические соединения	Фотолитогетеротрофы.
Некоторые пурпурные и зеленые серные бактерии	свет	Органические соединения	CO_2	Фотоорганавтотрофы.

Основные типы питания у различных групп микроорганизмов

Некоторые пурпурные и зеленые несерные бактерии	свет	Органические соединения	Органические соединения	Фотоорганогетеротрофы
Водородные, метанобразующие, ацетогенные бактерии	H_2	H_2	CO_2	Хемолитоавтотрофы.
Карбоксидабактерии, метанобразующие, ацетогенные бактерии	CO	CO	CO_2	- " -
Нитрифицирующие бактерии I фаза нитрификации II фаза нитрификации	NH_3 NO_2^-	NH_3 NO_2^-	CO_2 CO_2	- " - - " -
Железобактерии	Fe^{2+}	Fe^{2+}	CO_2	- " -
Некоторые метилотрофы, метанобразующие бактерии	CH_3OH	CH_3OH	CO_2	Хемоорганавтотрофы.
<i>Desulfovibrio desulfuricans</i> , метанобациллы (<i>M. kuznezovii</i>), тиобациллы	$H_2, S_2O_3^{2-}$	$H_2, S_2O_3^{2-}$	Органические соединения (CH_3COOH)	Хемолито-гетеротрофы
Большинство бактерий, грибы, простейшие	Органические соединения	Органические соединения	Органические соединения	Хемоорганогетеротрофы (Гетеротрофы)

Основные типы питания у различных групп микроорганизмов

Некоторые пурпурные и зеленые несерные бактерии	свет	Органические соединения	Органические соединения	Фотоорганогетеротрофы
Водородные, метанобразующие, ацетогенные бактерии	H_2	H_2	CO_2	Хемолитоавтотрофы
Карбокидобактерии, метанобразующие, ацетогенные бактерии	CO	CO	CO_2	--- ” ---
Нитрифицирующие бактерии I фаза нитрификации II фаза нитрификации	NH_3 NO_2^-	NH_3 NO_2^-	CO_2 CO_2	--- ” --- --- ” ---
Железобактерии	Fe^{2+}	Fe^{2+}	CO_2	--- ” ---
Некоторые метилотрофы, метанобразующие бактерии	CH_3OH	CH_3OH	CO_2	Хемоорганавтотрофы
<i>Desulfovibrio desulfuricans</i> , метанобациллы (<i>M.kuznezovii</i>), тиобациллы	$H_2, S_2O_3^{2-}$	$H_2, S_2O_3^{2-}$	Органические соединения (CH_3COOH)	Хемолитогетеротрофы
Большинство бактерий, грибы, простейшие	Органические соединения	Органические соединения	Органические соединения	Хемоорганогетеротрофы (гетеротрофы)

Типы энергетического метаболизма у микроорганизмов-гетеротрофов

Факультативные анаэробы	+	аэробное дыхание	CO_2	CO_2, H_2O	38	энтеробактерии, дрожжи
	-	брожения	орг.соединение (метаболит)	низкомолекулярные орг. соединения и газы	2-4	энтеробактерии, дрожжи
	-	анаэробное дыхание (нитратное)	NO_3^-	CO_2, NO_2^-, N_2	~ 38	отдельные виды псевдомоноад, бацилл, микробактерий и др.

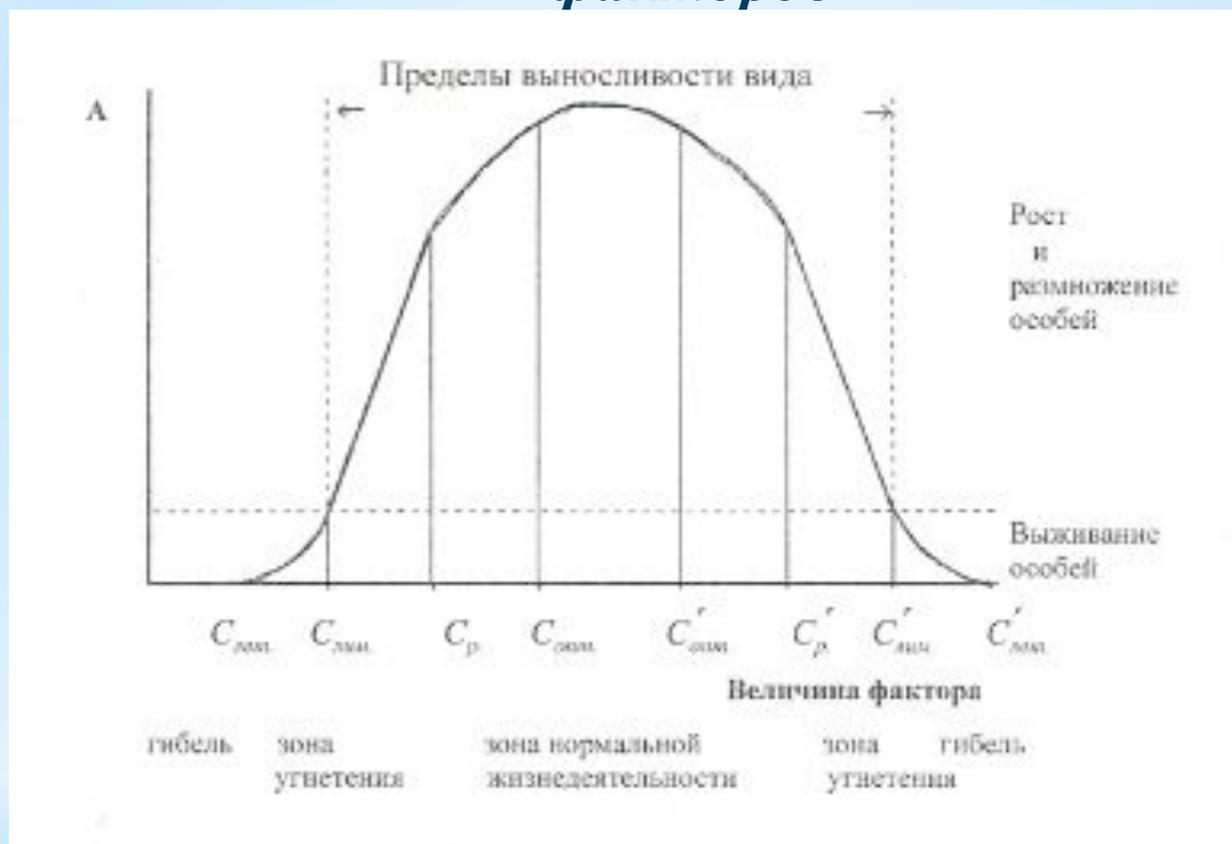
* — количество молей АТФ, синтезированных за счет 1 моля окисленного субстрата (глюкозы);

** — окисляемые субстраты — уксусная кислота, метанол и др.

Общие принципы действия экологических факторов



Отношение микроорганизмов к воздействию абиотических факторов



Условные обозначения: С — нижний предел, С' — верхний предел фактора; $C_{опт}$ - $C'_{опт}$ — пределы оптимальной величины фактора; C_p - C'_p — пределы условий, достаточные для роста; $C_{лим}$ - $C'_{лим}$ — пределы поддержания жизнедеятельности; $C_{лет}$ и $C'_{лет}$ — минимальная и максимальная летальные концентрации (приводящие к гибели).

А — жизненная активность (ось ординат); С — средние значения факторов

Влияние основных факторов среды на рост микроорганизмов и их биосинтетическую активность в типичных биотехнологических промышленных процессах

№ п/п	Фактор	Роль фактора	Методы управления фактором
1.	Состав и концентрация питательных веществ	Обеспечивают метаболизм	Составление оптимальной композиции; подпитка во время культивирования; непрерывность процесса; многостадийность с учетом потребностей микроорганизма по фазам роста и др.
2.	Концентрация продукта биосинтеза и ингибиторов	Замедляют биохимические реакции	Осаждение продукта по мере накопления; культивирование с использованием диализа, разрежения для испарения летучего продукта и др.
3.	Величина <i>pH</i>	Оптимизирует скорость биохимических реакций (пределы от 3,5 до 9,0)	Регулирование путем добавления кислоты или щелочи.

Влияние основных факторов среды на рост микроорганизмов и их биосинтетическую активность в типичных биотехнологических промышленных процессах

4.	Температура	Оптимизирует скорость биохимических реакций (обычно равна 20-70°C)	Охлаждение или подогрев культуральной жидкости при помощи теплообменников или температуры подаваемых в биореактор субстратов.
5.	Осмотическое давление или активность воды	Определяет границы жизни (составляет 0,6-0,998)	Составление сред с оптимальной концентрацией питательных веществ или влажностью твердой среды; поддержание на постоянном уровне во время процесса путем разбавления водой или добавления отдельных компонентов.
6.	Содержание растворенного кислорода	Для аэробов обеспечивает аэробный метаболизм; является акцептором H^+ ; ингибирует развитие анаэробов	В аэробных процессах регулируют интенсивность аэрации или добавляют к газовой смеси кислород (при атмосферном давлении и 20°C в 1 л среды растворяется 0,28 мМ O_2). Анаэробные процессы реализуют в бескислородной среде, что достигается продуванием N_2 , CO_2 или добавками восстановителей (цистина, аскорбиновой кислоты и др.)
7.	Содержание диоксида углерода	Источник углерода для автотрофов.	Среди гетеротрофов некоторые нуждаются, а некоторые замедляют метаболизм в присутствии CO_2 . В процессах с использованием микроорганизмов-фотосинтетиков — продувание газовой смесью, обогащенной CO_2 ; выделению CO_2 из жидкой фазы способствует перемешивание.

Влияние основных факторов среды на рост микроорганизмов и их биосинтетическую активность в типичных биотехнологических промышленных процессах

8.	Перемешивание среды	Равномерное распределение питательных веществ и биомассы по всему пространству среды	Организируют макро- и микроперемешивание в биореакторах при помощи механических мешалок, барботажных, циркуляционных и других систем. Аэрация способствует перемешиванию, а вспенивание — флотации клеток; флокуляция способствует осаждению биомассы.
9.	Вязкость среды	Определяет диффузию питательных веществ и перемешивание клеток продуцента	Регулирование компонентами питания, характером и концентрацией биомассы, а также наличием некоторых полимерных продуктов, выделяемых микроорганизмами. Вязкость влияет на перемешивание и аэрацию. Требуются специальные технические средства.