**БИОХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ, ВЫЗЫВАЕМЫЕ МИКРООРГАНИЗМАМИ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ**

**Спиртовое брожение**

Брожение – это процессы получения энергии, при которых отщепляемый от субстрата водород переносится, в конечном счете, на органические акцепторы. Л.Пастер называл брожение жизнью без воздуха.

Спиртовое брожение – это процесс превращения в анаэробных условиях сахара в диоксид углерода и этиловый спирт:

С6 Н12О 6 -» 2СО2 +2С2 Н5 ОН

Этиловый спирт – один из широко распространённых продуктов сбраживания сахаров микроорганизмами. Даже растения и грибы в анаэробных условиях накапливают этиловый спирт.

Возбудителями спиртового брожения являются дрожжи, которые выращивают в анаэробных условиях, подбирая соответствующие расы, обладающие необходимыми свойствами для данного производства. В результате химической реакции образуется уксусный альдегид и СО2

С02 является одним из конечных продуктов спиртового брожения. Уксусный альдегид играет роль конечного акцептора водорода. Он при участии фермента алкогольдегидрогеназы восстанавливается в этиловый спирт, а НАД Н2 регенерируется (окисляется) в НАД.

закваска молочнокислый бактерия аэробный

2СН3СНО + 2НАД Н2 -» 2СН3СН2ОН + 2НАД

Реакция восстановления уксусного альдегида в этиловый спирт является завершающим этапом спиртового брожения.

Наряду с основным продуктом (этиловым спиртом) в небольшом количестве образуются побочные продукты - глицерин, уксусный альдегид, сивушные масла. В состав сивушных масел входят пропанол, 2-бутанол, 2-метилпропанол, амиловый(пентанол) и изоамиловый(триметилбутанол) спирты, представляющие собой продукты нормального бродильного метаболизма дрожжей и обнаруживающиеся при росте дрожжей на любых средах. Высшие спирты участвуют в формировании аромата и вкуса напитков спиртового брожения. Дрожжи способны сбраживать помимо глюкозы и пировиноградную кислоту. В качестве промежуточного продукта при сбраживании пировиноградной кислоты образуется ацетальдегид; если к дрожжам, сбраживающим глюкозу, добавить бисульфит, то появится новый продукт – глицерин, однако при этом снижается выход этилового спирта и СО2.

На условия спиртового брожения влияют многие факторы: химический состав сбраживаемой среды, содержание спирта, температура, наличие посторонних микроорганизмов.

Большинство дрожжей способны сбраживать моносахариды, а из дисахаридов – сахарозу и мальтозу. Пентозы сбраживаются только некоторыми дрожжами. Дрожжи не могут сбраживать крахмал, так как они не образуют амилолитических ферментов.

Наиболее благоприятная концентрация сахара-10-15%, при 30-35% брожение прекращается. Энергией брожения называется способность определённого количества дрожжей сбраживать за определённый промежуток времени то или иное количество сахара.

Хорошим источником азота для большинства дрожжей являются аммонийные соли, но дрожжи могут использовать также аминокислоты и пептиды. Брожение протекает в кислой среде при pH 4-5 .В щелочной среде повышается выход глицерина, t = 28-30°С.

Наибольшая скорость брожения наблюдается при температуре около 30°С; при температуре 45-50°C брожение прекращается в результате гибели клеток дрожжей. Снижение температуры приводит к замедлению брожения, но полностью оно не прекращается даже при температуре ниже 0°C.

Использование спиртового брожения лежит в основе производства этилового спирта, пива, вина и пекарских дрожжей.

Верховые дрожжи - ведут процесс при t = 25-28°C. Образуется пена, дрожжи выносятся наверх, а в конце оседают на дно (производство спирта, хлебопечение).

Низовые дрожжи - ведут процесс при t = 5-10°С, пена незначительная, дрожжи оседают на дно в процессе брожения (пивоварение, виноделие).

В производстве спирта используют спиртоустойчивые расы дрожжей (до 18-20% спирта). В хлебопечении используют прессованные, сухие, а также жидкие дрожжи. Хлебопекарные дрожжи должны обладать мальтазной активностью и образовывать большое количество С02.

В производстве этилового спирта для пищевых целей используют разное сырьё трёх основных групп: содержащее сахар ( сахарная свекла, кормовая патока, или меласса, сахарный тростник, фруктовые соки); содержащее крахмал ( картофель, земляная груша, кукуруза, ячмень, овёс, рожь, пшеница); содержащее целлюлозу( древесина и сульфитные щелока).

Крахмалосодержащее сырьё разваривают и подвергают осахариванию. Источником амилолитических ферментов служит солодовое молоко, изготовляемое из проросших зёрен ячменя, или ферментный препарат из грибов рода Aspergillus.

В зерновом и грибном солоде кроме амилаз содержатся протеолитические ферменты, вызывающие частичное превращение белков затора в растворимые азотосодержащие вещества. В результате получается жидкий сахаристый субстрат - сусло.

В полученное сусло вносят дрожжи, чаще всего применяют расы Saccharomyces cerevisiae, которые обладают высокой энергией брожения.

По окончании брожения дрожжи отделяют от сброженных заторов, а спирт отгоняют на специальных перегонных аппаратах. Получается спирт-сырец и остаётся отход производства – барда, которую используют для получения кормовых дрожжей.

Спирт-сырец используют как для технических целей, так и для дальнейшей очистки - ретефикации.

Для получения технического спирта используют гидролизаты древесины и другие отходы целлюлозно-бумажной промышленности. В настоящее время технический спирт получают также синтетическим путем - из побочных продуктов переработки нефти (этилена).

В производстве пива основным сырьем является ячменный солод. Из солода, воды и хмеля готовят пивное сусло, сусло подвергают брожению специальными видами (расами) пивных дрожжей. Это хлопьевидные дрожжи низового брожения. В процессе получения пива два периода брожения – главное ( при температуре 6-10 °C дрожжи активно размножаются и интенсивно сбраживают сахар) и дображивание (сливают с дрожжевого осадка и оставляют при температуре около 1°C).

Созревшее пиво осветляют, а дрожжи удаляют путём фильтрования или центрифугирования и направляют на розлив.

В производстве вин исходным материалом служат виноградный и плодово-ягодные соки. Все соки являются хорошей питательной средой для микроорганизмов. Соки сульфитируют (обрабатывают SO2), а затем подвергают брожению. Применяются специальные расы дрожжей для получения разных сортов вин.

**Пропионово-кислое брожение**

Пропионово-кислое брожение вызывается пропионово-кислыми бактериями, относящимися к роду Propionibacterium. Единственным источником энергии для них является процесс сбраживания разнообразных веществ – моносахаридов (гексоз и пентоз), молочной или яблочной кислоты, глицерина и других, которые превращаются в пропионовую и уксусную кислоты, диоксид углерода и воду. Они широко представлены в молочных продуктах, в почве.

Пропионово-кислые бактерии родственны по ряду свойств гетероферментативными молочнокислыми бактериями и часто развиваются совместно с ними.

Пропионово-кислые бактерии – это небольшие, неподвижные палочки, слегка искривлённые, не образующие спор, грамположительные, факультативные анаэробы. Они, как и молочнокислые бактерии, не встречаются в почве и водоёмах. Обитают в основном в кишечном тракте жвачных животных, а также в молоке.

Практическое использование пропионово-кислого брожения. Оно используется для получения сыров в молочно-сыродельных производствах. Вначале казеин молока подвергают коагуляции под действием сычужного фермента, выделяемого из желудка жвачных животных. Затем сгустки отделяют от сыворотки, прессуют, выдерживают в растворе соли и оставляют для созревания.

В первую фазу созревания в сгустке казеина протекает молочнокислое брожение, при этом лактоза превращается в молочную кислоту. Затем наступает вторая фаза созревания сыров – пропионово-кислое брожение, когда сбраживается образовавшаяся молочная кислота. В результате образуются летучие кислоты – уксусная и пропионовая, придающие сырам кисловато-острый вкус, а выделяющийся в виде пузырьков диоксид углерода образует «глазки» в сыре. Производство сыра продолжается 2-3 месяца минимум, лучшие сорта выдерживаются почти до года. На больших сыродельческих предприятиях вместо самопроизвольного созревания сыра при участии естественной микрофлоры молока применяют специальные закваски, иногда с введением мицелиальных грибов, например P.roqueforti при производстве сыра «Рокфор».

У пропионово-кислых бактерий обнаружена способность к активному синтезу витамина В12, который накапливается внутри клеток. Эта особенность используется для промышленного получения витамина В12 на отходах производства (молочной сыворотке и др.) с добавлением кукурузного экстракта в качестве витаминов.

Пропионовую кислоту используют при хранении зерна и хлеба. В концентрации 0,5% она задерживает рост плесневелых грибов.

Зерно, обработанное слабым раствором пропионовой кислоты, не плесневеет даже при повышенной влажности. Пропионовая кислота предотвращает плесневение хлеба. Её вводят в хлеб вместе с тестом, для чего сначала готовят заквасочную культуру, в которую входят Propionibact. acidopronionici и Lactobact. brevis. Через трое суток культивирования закваски накапливается небольшое количество пропионовой, уксусной и молочной кислот. Эту закваску вносят в тесто. Она придаёт хлебу нежно-кислый вкус и предотвращает его плесневение.

**Разложение жира и жирных кислот. Разрушение. Возбудители, условия. Практическое значение**

Естественные жиры и жирные масла растительного и животного происхождения представляют собой твёрдые и полутвёрдые (жиры) или жидкие (масла) триглицериновые смеси. Животные жиры, кроме жиров морских животных и молочного жира, состоят из насыщенных высших жирных кислот: пальмитиновой и стеариновой, а растительные масла содержат ненасыщенные жирные кислоты: масляную, линолевую, линоленовую.

По сравнению со многими другими пищевыми продуктами чистые жиры и масла значительнее подвержены порче в результате химических превращений, чем в результате жизнедеятельности организмов. Это связано с тем, что микроорганизмы содержат недостаточное количество ферментов, расщепляющих жиры. В чистых жирах и маслах отсутствует вода, жизненно необходимая микроорганизмам, мало и минеральных питательных веществ. Несмотря на это, в свином жире, содержащем всего 0,3% воды, встречаются липофильные бактерии, образующие липазы, микрококки и споры Asp. niger.

Порча жиров ускоряется многими факторами: светом, кислородом влажностью. В процессах ферментативного расщепления жиров могут участвовать не только микроорганизмы, разрушающие жиры, но и ферменты, содержащиеся в сами пищевых продуктах. Испорченные жиры и масла называют прогорклыми. Из-за неприятного запаха и вкуса они непригодны для питания людей. Прогорклость жира вызывается окислительными и гидролитическими процессами, которые чаще всего протекают одновременно. Главной причиной прогорклости является окисление ненасыщенных жирных кислот под действием липоксигеназ , что ведёт к образованию альдегидов и кетонов. Кислотная прогорклость происходит из-за гидролитического расщепления триглицеридов с освобождением жирных кислот. Низкомолекулярные жирные кислоты, например масляная кислота, которая содержится в большом количестве в маслах, является дуронопахнущей водорастворимой жидкостью с острым вкусом.

Глицерин, накапливаемый в жирах при полном их ферментативном гидролизе микроорганизмами, хорошо используется и потребляется бактериями.

Трудно расщепляемые жирные кислоты, освобождающиеся при разложении жира, переходят в субстрат, накапливаются и подвергаются дальнейшим превращениям.

Жирные кислоты, имеющие среднюю длину цепей с 4-12 атомами углерода, могут расщеплять бактериями и гифомицетами до метилкетонов, которые интенсивно воздействуют на органы чувств, так как они ответственны за неприятный запах и вкус прогорклых продуктов. Метилкетоны могут превращаться с помощью редуктаз грибов во вторичные спирты.

Витамин Е и другие антиоксиданты могут препятствовать окислению жиров. Порча фосфатидсодержащих пищевых продуктов происходит в результате гадролиза с образованием 3-метиламинаN(CH3) 3 , из которого путём окисления получается окись 3-метиламина, придающая характерный привкус рыбе.

В прогорклых жирах и маслах также встречаются моно- и диглицериды , окси- и гидрооксижирные кислоты, вторичные спирты и лактоны.

Прогорклость воспринимается органами чувств человека как весьма неприятное свойство продукта. Даже незначительное содержание прогорклого жира может привести к невозможности потребления содержащих эти жиры пищевых продуктов. Например, прогорклое кокосовое масло, добавленное даже в очень малых количествах в выпекаемые изделия, отрицательно сказывается на вкусовых качествах готового продукта. Некоторые разрушающие жиры микроорганизмы (кокки, споровые бактерии, гифомицеты) образуют жёлтые, красные или коричневые жирорастворимые пигменты (красящие вещества), которые путём диффузии попадают в пищевой продукт и вызывают нежелательное окрашивание его.

Возбудителями процессов разложения жира и жирных кислот являются разные бактерии и плесневелые грибы. Среди бактерий к возбудителям процессов разложения относятся роды Bacillus, Pseudomonas, Micrococcus, Serratia, Proteus и Achromobacter. Все эти бактерии, кроме липаз, синтезируют и другие ферменты, расщепляющие белки и углеводы, поэтому они встречаются во многих пищевых продуктах. Психрофильные роды Pseudomonas и Achromobacter являются причиной порчи пищевых продуктов, содержащих жиры.

Из плесневелых грибов значительной липолитической активностью обладают виды Odium lactis , Cladosporium herbarum , Candida lipolitica, Aspergillus, Penicillium, Fusarium и другие. Так как они менее требовательны к влажности, чем другие плесневелые грибы, они играют большую роль при разрушении жиров и масел, а также пищевых продуктов с большим содержанием жиров, таких, как орехи, майонезы, хлебобулочные изделия, масличные семена и другие, нанося большой ущерб.

Для повышения стойкости продукта к прогорканию, особенно при длительном хранении, используют холод. Для маргаринов разработаны специальные пастеризационные установки. В майонезы, которые особенно легко разрушаются бактериями, дрожжами гифомицетами, допускается в ограниченном количестве добавление химических консервантов ( бензойной кислоты и её дериватов). Благоприятные условия создаёт герметичная упаковка, так как разрушающие жир микроорганизмы являются в основном аэробами.

**Гниение. Возбудители. Условия, химизм. Практическое значение**

Азот – один из важнейших элементов на Земле – входит в состав белков и нуклеиновых кислот, его много в составе атмосферы, в виде органических и минеральных соединений азот находится в почве и воде.

В превращениях азота в круговороте веществ в природе большую роль играют микроорганизмы.

Как и другие высокомолекулярные соединения, белки сначала расщепляются экзопротеазами микроорганизмов на фрагменты – поли- и олигопептиды, аминокислоты, которые могут проникать внутрь клетки. Например, пептиды, попавшие внутрь клетки, могут гидролизоваться эндоферментами до аминокислот и затем использоваться клеткой для синтеза собственных белков или подвергаться дальнейшим изменениям и вовлекаться в обмен веществ.

Распад белков сопровождается выделением аммиака, поэтому этот распад называют ещё минерализацией азота, или аммонификацией, или гниением.Гниение – процесс разложения белковых веществ, вызываемый гнилостными бактериями и сапротрофными грибами с образованием дурнопахнущих конечных продуктов – аммиака и первичных аминов.

Образовавшиеся аминокислоты подвергаются декарбоксилированию , дезаминированию и трансаминированию.

Декарбоксилирование аминокислот происходит в кислой среде и приводит к образованию СО2 и первичных аминов , которые ещё называют биогенными аминами. Из них наиболее известны кадаверин, путресцин и агматин. Их ещё называют трупными ядами. Кадаверин образуется из лизина, путресцин – из орнитина, агматин – из аргинина.

Дезаминирование – процесс отщепления аммиака от аминокислоты. В зависимости от дальнейших превращений углеродного «скелета» аминокислоты различают окислительное и гидролитическое дезаминирование и дезаминирование, заканчивающееся образованием ненасыщенных соединений.

Окислительное дезаминирование – наиболее распространённых тип распада аминокислот, при котором образуются кетокислоты и аммиак. Например, глутаминовая кислота дезаминируется ферментом глутаматдегидрогеназой до 2-оксоглутаровой кислоты. Реакция обратима, поэтому играет важнейшую роль в обмене аминокислот.

Гидролитическое дезаминирование приводит к образованию оксикислот и аммиака.

Гидролитическому расщеплению подвергается мочевина под влиянием фермента уреазы, который является конститутивным у следующих бактерий: Bacillus pasteurii , Proteus vulgaris и других, расщепляющих всю мочевину до аммиака.

Трансаминирование сопровождается переносом аминогруппы аминокислоты на 2-оксикислоту, при этом образуются аминокислоты, которые не могут быть синтезированы путём прямого аминирования аммиаком.

Дальнейшие превращения углеродного «скелета» у разных аминокислот различны. Образуется много разных органических кислот, спиртов и др. Такие продукты дезаминирования, как пировиноградная, щавелевоуксусная , 2-оксоглутаровая кислоты являются одновременно и промежуточными продуктами центральных путей катаболизма. Другие соединения через специальные катаболитические пути вовлекаются в промежуточный обмен.

При разложении некоторых аминокислот образуются такие промежуточные продукты, как фенол, крезол, скамол, индол, которые обладают очень неприятным запахом. При распаде аминокислот, содержащих серу, получается сероводород или его производные – меркаптаны с запахом тухлых яиц, который ощущается даже при ничтожно малых концентрациях.

Дальнейшие превращения азотистых и без азотистых веществ, получающихся при распаде аминокислот, зависят от окружающих условий и состава микрофлоры.

Анаэробные микроорганизмы окисляют аминокислоты с накоплением промежуточных соединений в виде органических кислот, аминов и других, в числе которых могут быть вещества, обладающие ядовитыми свойствами, а также вещества, придающие гниющему материалу отвратительный запах.

Микроорганизмы – возбудители гниения. Аммонификация Полковых соединений является первым микробиологическим процессом по превращению азотистых соединений в природе, который протекает при температуре не ниже 100С и определённой влажности. Аммонификация осуществляется разными микроорганизмами: аэробными, факультативно-анаэробными и анаэробными.

Аэробные микроорганизмы окисляют азотосодержащие вещества до полной минерализации, конечными продуктами которой являются аммиак, СО2 , Н2О, сероводород и другие.

Виды анаэробных бактерий:

Bacillus mycoides - палочковидная, спорообразующая, грамположительная, подвижная (перитрих) бактерия, образующая споры овальной формы. Колонии на агаризованной среде напоминают мицелий, поэтому и названа mycoides, что означает грибовидный.

Bacillus mesentericus – палочковидная грамположительная, подвижная бактерия, образующая овальные споры. На агаризованной среде образует сухие матовые складчатые колонии.

Bacillus subtilis – широко распространённая энергичная перитрих гнилостная бактерия, образующая овальные споры. Окрашивается по Граму положительно. На агаризованной среде образует сухие складчатые непрозрачные колонии.

Bacillus megaterium – грамположительная, слабо подвижная бактерия, образующая споры. На агаризованной среде образует блестящие колонии с волокнисто-бахромчатыми краями.

Serratia marcescens – подвижная бактерия, образующая кроваво-красный пигмент. На агаризованной среде колонии напоминают округлые кровавые пятна с ровными краями, приподнятыми в центре, слизистой консистенции.

К факультативно-анаэробным микроорганизмам относятся Proteus vulgaris и E.coli.

Proteus vulgaris – очень полиморфная подвижная палочка, резко изменяющая форму и размеры на питательной среде. По Граму не окрашивается. Во время роста может перемещаться по наклонной поверхности плотной питательной среды.

E.coli – грамотрицательная подвижная кишечная палочка. Встречаются и неподвижные штаммы. Основное местонахождение – кишечник человека и животных, откуда попадает в почву и водоёмы. Принимает активное участие в разложении белка.

К анаэробным микроорганизмам относятся Clostridium putrificum и Clostridium sporogenes.

Clostridium putrificum – небольшая спорообразующая клостридия, по форме напоминающая барабанную палочку. Является одним из наиболее распространённых возбудителей анаэробного разложения белков. Образует большое количество газов.

Clostridium sporogenes – мелкая клостридия с центральным расположением споры. Обладает сильными протеолитическими свойствами. На средах с белком образует аммиак и другие продукты разложения.

Кроме бацилл и бактерий белок разлагают актиномицеты и грибы, но аммонифицирующая способность их ниже и выражена в разной степени.

Разложение белков актиномицетами и грибами происходит под действием экзоферментов, выделяемых во внешнюю среду.

Кроме белков эти микроорганизмы способны разлагать пектиновые вещества, полисахариды растительных тканей, сбраживать углеводы.

Они являются возбудителями порчи многих пищевых продуктов: мяса, мясопродуктов, рыбы и рыбопродуктов, яиц, молока и других продуктов. Но эти микроорганизмы играют большую положительную роль в круговороте веществ в природе, минерализуя белковые вещества, попадающие в почву и воду.

Для предохранения продуктов питания от гниения применяют стерилизацию, засолку, копчение, замораживание и др. Однако среди гнилостных бактерий есть спороносные, галофильные и психрофильные формы, формы, вызывающие порчу засоленных или замороженных продуктов.

**Значение в процессах порчи пищевых продуктов**

Важнейшим параметром пищевых продуктов является их качество, под которым понимают совокупность свойств продукта, обеспечивающих потребности организма человека в пищевых веществах, органолептические характеристики продукта, безопасность его для здоровья потребителя, надёжность в отношении стабильности состава и сохранения потребительских свойств. Важным показателем, относящимся к понятию качества пищевых продуктов, включая степень обеспечения физиологических потребностей человека в основных пищевых веществах и энергии. Пищевая ценность определяется химическим составом пищевого продукта с учётом его потребления в общепринятых количествах.

Основная причина порчи пищевых продуктов и большинства случаев пищевых заболеваний — это деятельность микроорганизмов. Микробиологическая порча является главной проблемой так называемых «портящихся продуктов» — свежих фруктов, овощей, мяса, птицы, хлебобулочных изделий, молока и соков. К микроорганизмам, способным вызывать порчу пищевых продуктов, относятся бактерии, грибы (плесени и дрожжи), вирусы и микопаразиты. Рост большинства микроорганизмов можно предотвратить или замедлить посредством контроля их начального содержания, контроля температуры хранения, снижения активности воды и рН, применения консервантов и использования соответствующей упаковки. Продукты жизнедеятельности микроорганизмов являются причиной порчи пищевых продуктов, а некоторые из них при употреблении испорченных продуктов в пищу могут стать причиной тяжелых заболеваний и даже летального исхода. Менее серьёзные случаи порчи могут проявляться в ухудшении цвета, вкуса и аромата продукта до такой степени, что он становится неприемлемым. Тем не менее, не все микроорганизмы и продукты их жизнедеятельности являются нежелательными. Некоторые из них полезны и используются в пищевых технологиях — в частности, при производстве сыра, вина, пива, мясопродуктов и др.Существует множество видов бактерий, способных размножаться и вызывать порчу различных пищевых продуктов. Бактерии, способные вызывать пищевые заболевания, включают

Многие виды бактерий вызывают порчу пищевых продуктов, но не являются болезнетворными. В качестве защитного механизма для выживания в неблагоприятных условиях некоторые бактерии способны образовывать споры. Дрожжи могут вызывать порчу пищевых продуктов, но могут также использоваться в различных процессах брожения. Скрытое нарушение состава и свойств пищевых продуктов в результате замены части продукта другим, ведущее к изменению его пищевой ценности (без ведома потребителя), а также применение приёмов обработки, маскирующих порчу или иные дефекты продукта, называется фальсификацией пищевых продуктов.

**Список используемой литературы**

1. Жарикова Г.Г. Микробиология продовольственных товаров. Санитария и гигиена – М.:ACADEMA, 2005 – 296 с.

2. Справочник по товароведению продовольственных товаров/ Под ред. Т.Г. Родиной. – М.: КолосС, 2003.

3. Шпегель Д. Общая микробиология. – М.: Высшая школа 1989.

4. Панов В.П., Кострова Е.И., Козырева С.М. Микробиология . I часть. Учебно-практическое пособие для студентов всех технологических специальностей. МГУТУ, 2004.

5. Никитина, Елена Владимировна. Микробиология: учебник для студ. вузов / Е.В Никитина, С.Н. Киямова, О.А. Решетник. – СПб.: ГИОРД, 2008. – 368 с