

La fosforilarea oxidativă eliberarea energiei potențiale din diverse substraturi de natură organică se realizează prin procese de oxidare, care se pot desfășura astfel:

- *reacții de oxidare prin pierdere de electroni*, caz în care are loc un transfer de electroni de la substanțe cu potențial de oxidoreducere negativ (maxim $-0,41$ pentru hidrogen), la substanțe cu potențial de oxidoreducere pozitiv (maxim $+0,82$ pentru oxigen);
- *reacții de oxidare prin transfer de hidrogen (electroni și protoni)*: acest tip de oxidare este folosit de unele microorganisme anaerobe și aerobe și transferul este realizat de enzime active la diferite valori ale potențialului de oxidoreducere. Enzimele implicate în reacțiile de oxidoreducere sunt dehidrogenazele aerobe (aldehid-dehidrogenaza) și anaerobe (alcool-dehidrogenazele), care au drept coenzime NAD-ul sau NADP-ul și care preiau atomii de hidrogen trecând din forma oxidată (NAD^+) în forma redusă ($\text{NADH} + \text{H}^+$);
- *reacții de oxidare prin câștig de O_2* , când, în prezența enzimelor care acționează la un potențial de oxidoreducere pozitiv, are loc transferul de H la O_2 provenit din aer și se formează apă; această reacție de oxidare este caracteristică microbiotei aerobe.

Respirația aerobă este un metabolism oxidativ dependent de oxigenul din aer, iar produsele finale sunt CO_2 și apa, întreaga energie a substratului oxidat eliberându-se prin produsele finale ale respirației.

Respirația aerobă este din punct de vedere energetic foarte avantajoasă pentru celula microbiană; de aceea, atunci când se urmărește obținerea de celule în cantități mari (drojdie comprimată) sau de substanțe intracelulare, cultivarea se face în condiții de aerare.

Microorganismele aerobe dispun de o catenă respiratorie diversificată, în componența căreia intră dehidrogenaze, citocromi, citocrom-oxidaze, oxidaze.

Numeroase bacterii pot oxida hidrogenul (*Pseudomonas*), amoniacul până la NO_2 (*Nitrosomonas*), sulfură și H_2S până la sulfat (*Acidithiobacillus thiooxidans*), sau Fe^{2+} la Fe^{3+} (*Acidithiobacillus ferrooxidans*), reacții cu rol important în ciclul natural al elementelor.

Respirația anaerobă este un metabolism oxidativ în care substratul este transformat până la CO_2 , iar electronii sunt cedați prin oxidare unor compuși anorganici.

Acest tip de respirație este întâlnit la bacteriile *strict anaerobe*.

Astfel, *bacteriile denitrificatoare* pot transforma NO_3 la azot molecular, *bacteriile metanogene* pot transforma dioxidul de carbon în metan, *bacteriile acetogene* ale genului *Clostridium* pot transforma dioxidul de carbon în acid acetic.

Aceste bacterii obțin o cantitate mică de energie și pot crește în absența oxigenului molecular, la un potențial de oxidoreducere de $-0,2...-0,3$ V. Ținând cont că mediile care vin în contact cu O_2 au un potențial redox de $+0,2...+0,4$ la un $\text{pH} = 7$, pentru a asigura dezvoltarea anaerobilor, în mediu se adaugă substanțe cu caracter reducător ca: tioglicolat de sodiu, cistein-SH, sulfură de sodiu. Substanțele reducătoare mențin un potențial oxidoreducător scăzut, care permite dezvoltarea anaerobilor în plăci, chiar când mediul vine în contact cu aerul. Pentru cultivarea anaerobilor se pot folosi și vase speciale numite anaerostate, în care O_2 este legat chimic, sau cultura se menține în atmosferă de gaze inerte (CO_2 , N_2).

Metabolismul oxidativ anaerob poate fi întâlnit și la microorganisme *facultativ anaerobe*.

Aceste microorganisme au capacitatea de a crește aerob, utilizând oxigenul din aer (respirație aerobă), sau anaerob, utilizând compuși organici ca acceptori finali ai electronilor produși prin catabolism.

În condiții aerobe microorganismele *facultativ anaerobe* își adaptează echipamentul enzimatic pentru procese de oxidare până la produși finali, utilizând preferențial oxigenul, când este disponibil, datorită cantității mai mari de energie rezultată prin respirație aerobă (36 moli ATP/mol glucoză asimilată, față de 2-3 moli ATP/mol glucoză fermentată).

Celula microbiană prelucrează nutrienții obținând energie și diferiți compuși, iar produșii de catabolism sunt eliminați. În cursul acestor prelucrări metabolice, în funcție de faza de creștere a celulei, rezultă produși de metabolism, care pot fi împărțiți astfel:

- *produși primari*, care se formează în faza de creștere exponențială a celulelor (trofofaza) și sunt produși esențiali pentru celulă;
- *produși secundari*, care sunt formați în faza de declin a creșterii celulelor (idiofază) și nu sunt esențiali celulei (toxine, alcaloizi).

Procesele fermentative utilizate în industria alimentară, produse de culturi selecționate, sunt prezentate în următorul tabel:

Fermentații anaerobe și produse de fermentație	Microorganisme selecționate	Fermentații oxidative și produse de fermentație	Microorganisme selecționate
<i>Alcoolică</i> (alcool etilic și CO ₂)	<i>Saccharomyces sp.</i>	<i>Acetică</i> (acid acetic, H ₂ O)	<i>Acetobacter</i>
<i>Lactică</i> (acid lactic, diacetil)	<i>Lactobacillus,</i> <i>Lactococcus</i>	<i>Gluconică</i> (acid gluconic)	<i>Gluconobacter</i> <i>Aspergillus niger</i>
<i>Propionică</i> (acid propionic, acid acetic, CO ₂)	<i>Propionibacterium</i>	<i>Citrică</i> (acid citric)	<i>Aspergillus niger</i>
<i>Butirică</i> (acid butiric, CO ₂ , H ₂)	<i>Clostridium</i>	<i>Oxalică, fumarică</i>	<i>Aspergillus</i>

FERMENTAȚII ANAEROBE

Fermentația alcoolică

Fermentația alcoolică este un proces anaerob prin care glucidele fermentescibile sunt metabolizate prin reacții de oxidoreducere, sub acțiunea echipamentului enzimatic al drojdiei, în produși principali (alcool etilic și CO₂) și produși secundari (alcooli superiori, acizi, aldehide ș.a.).

Agenții tipici ai fermentației sunt drojdiile genului *Saccharomyces* care, prin fermentarea glucidelor, pot să producă mai mult de 8° alcool etilic.

Fermentația alcoolică este un proces întâlnit și la alte microorganisme: *Bacillus macerans*, *Clostridium acetonoetilicus*, *Zygomonas mobilis*, dar acestea produc prin fermentare cantități mai reduse de alcool etilic comparativ cu drojdiile și nu sunt considerate agenți tipici.

Proprietăți biotehnologice ale drojdiilor fermentative

Pentru a putea fi folosite în practică, drojdiile genului *Saccharomyces* sunt selecționate în funcție de unele proprietăți cum ar fi:

- **puterea alcooligenă**, care se referă la concentrația mare de alcool ce se poate acumula când în mediu există zahăr în exces.

Drojdiile sunt sensibile la creșterea concentrației în alcool. În timp ce drojdiile cu putere alcooligenă slabă (*Kloeckera*, *Torulopsis*) sunt inhibitate la o concentrație în alcool de 4-6°, drojdiile de vin și spirt (*S.cerevisiae* var. *ellipsoideus*, *S. cerevisiae-cerevisiae*) au o putere alcooligenă mare și produc fermentație alcoolică până se acumulează 16-18° alcool.

- **alcoolarezistența**, care se referă la capacitatea drojdiei de a continua fermentația la creșterea concentrației de alcool, deoarece alcoolul etilic poate acționa ca un denaturant al proteinelor și produce inactivarea enzimelor sensibile.

- **sulfitorezistența**, o proprietate importantă a drojdiilor de vin de a se adapta la concentrații de 200-500 mg SO₂/dm³, concentrații care pot influența negativ activitatea altor drojdii din must, neadaptate (drojdii peliculare sau oxidative), ca urmare a scăderii potențialului de oxidoreducere.

- **capacitatea de floclurare și pulverulența**, sunt proprietăți datorate structurii peretelui celular și modificării pH și rH din timpul fermentației. *Drojdiile floclurante* pot forma asociații ce se depun mai ușor, în timp ce *drojdiile pulverulente* se mențin mai mult timp în suspensie și produc o fermentație mai avansată. Pentru drojdiile de șampanie se urmărește ca acestea să se depună ușor în gâtul sticlei și prin operația de degorjare, să se separe sedimentul, obținându-se o șampanie limpede.

- **osmotoleranța**, care se referă la capacitatea drojdiilor de a produce fermentația în mediu cu concentrație crescută de zahăr. Această proprietate este recomandată drojdiilor folosite la obținerea spirtului din melasă.

- **frigofilia**, este o adaptare a drojdiilor de vin de a produce fermentația la temperaturi scăzute (10-15 °C); astfel sunt evitate fermentațiile secundare, iar vinul conține mai multe substanțe de aromă.

- **caracterul killer**, întâlnit la unele drojdii capabile de a acumula intracelular o toxină cu efect inhibitor asupra altor drojdii sensibile. În selecționarea drojdiilor de vin, culturile care au acest caracter dau randamente superioare, deoarece în cursul fermentației se produce o autoselecție naturală.

Factorii care influențează dinamica fermentației alcoolice

Fermentația alcoolică, în condiții industriale folosește substraturi naturale bogate în glucide fermentescibile, iar viteza de fermentare și transformare a glucidelor în produși primari și secundari este dependentă de numeroși factori care pot fi împărțiți în două mari categorii: *factori biologici* (dependenți de microagenții fermentării) și *factori fizico-chimici* (dependenți de compoziția mediului supus fermentării și de condițiile de mediu).

Factorii biologici

1. Fermentația alcoolică este cauzată de *enzimele* elaborate de celula de drojdie, deci fermentația este un proces de natură enzimatică.

Complexul zimazic acelar obținut prin mojararea celulelor de drojdie este format din 15 enzime care catalizează, în diferite etape, procesele de oxido-reducere ale glucidelor fermentescibile și, în final, formarea de alcool etilic.

Enzimele cele mai importante sunt dehidrogenazele: *glicerat-aldehid-dehidrogenaza* și *alcool dehidrogenaza*, care au drept coenzimă NAD, cu rol în transferul de hidrogen în reacțiile de catabolism.

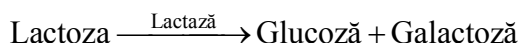
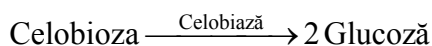
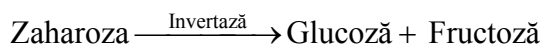
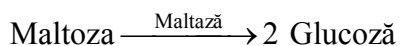
2. Fermentația decurge rapid dacă celulele sunt în *faza de creștere exponențială* sau la *începutul fazei staționare* de creștere. Drojdiile autolizate își pierd proprietățile fermentative ca rezultat al hidrolizei proteinelor intracelulare (inactivarea enzimelor).

3. Viteza de fermentație depinde și de *numărul de celule/cm³ mediu*. Viteza crește cu numărul de celule – prin viteză înțelegând conținutul de alcool format la 100 ml lichid în unitatea de timp. În practică concentrația de microorganisme este stabilită (din rațiuni economice), fiind de 10^6 - 10^7 celule/cm³, pentru declanșarea rapidă a fermentației.

4. *Spectrul de fermentare al glucidelor* este un factor important, știind că drojdiile produc fermentarea unui număr limitat de glucide.

Glucidele *direct fermentescibile* sunt formele dextrogire ale *glucozei* și *fructozei* și în mai mică măsură ale *galactozei*.

Digluclidele sunt hidrolizate de către enzimele drojdiilor în glucide simple:



Pentru obținerea alcoolului etilic de fermentare plecând de la *poliglucide*, deoarece drojdiile nu produc amilaze/celulaze și nu pot produce hidroliza enzimatică a poliglucidelor, este necesară zaharificarea prealabilă a acestora. Substraturile naturale ce conțin poliglucide (amidon, celuloză) sunt hidrolizate în prealabil pe cale chimică sau enzimatică, până la obținerea glucidelor fermentescibile.

5. *Comportarea drojdiilor fermentative în funcție de accesul oxigenului în mediul supus fermentării.*

În condiții anaerobe, prin imersare în must, celulele de drojdie produc fermentarea glucidelor, obținând o cantitate mică de energie (2 moli ATP/mol glucoză fermentată). De aceea ele trebuie să prelucreze o cantitate mare de glucoză pentru a obține energie, dar creșterea numărului de celule se face foarte lent.

Dacă mediul de fermentare este puternic aerat atunci are loc efectul Pasteur, prin care se observă conversia fermentației în respirație. Oxidarea se face până la produșii finali CO₂ și H₂O, iar cantitatea de energie este mult mai mare, pentru același echivalent energetic consumându-se o cantitate mai mică de zahăr.

În practica vinificării, atunci când fermentația decurge lent, ca rezultat al prezenței în mediu a unui număr mic de celule, se poate stimula creșterea prin aerare.

În industriile fermentative (spirt, vin, bere) nu se urmărește obținerea de biomasă celulară; de aceea, condițiile sunt anaerobe, pentru ca o cantitate mare de zahăr să fie transformată în alcool etilic.

La fabricarea drojdiei comprimate sau a drojdiei furajere, pentru obținerea unei cantități mari de biomasă, se procedează la aerarea mediilor nutritive.

Factorii fizici și chimici

Fermentația alcoolică este influențată și de factori fizici și chimici care acționează atât asupra vitezei de fermentare cât și asupra bilanțului masic și a raportului dintre producții primari și secundari.

1. Compoziția mediului de fermentare

Componentele mediului nutritiv pot fi metabolizate în mod diferit. Acesta este motivul pentru care la vinuri, de exemplu, în funcție de calitatea mustului (care este influențată de soiul și gradul de coacere a strugurilor), apar diferențe de aromă, buchet. Din punct de vedere al compoziției mediului următorii factori au un rol deosebit:

- **concentrația în zahăr**, influențează direct proporțional viteza de fermentare atunci când se situează între 5-12%.

Cu creșterea concentrației de zahăr unele drojdii mai sensibile sunt inhibate în activitate.

Drojdiile fermentative sunt osmotolerante și produc fermentația în condiții bune a mustului de struguri cu o concentrație de 170-250 g zahăr/dm³.

Substraturi folosite industrial în fermentația alcoolică:

- o *mustul de struguri* – la fabricarea vinului;
- o *mustul de malț* cu conținut de maltoză (80% din subst. solubilă) – la fabricarea berii;
- o *melasa* (cu 45-55% zaharoză necristalizată) – spirt și a drojdie comprimată;
- o *plămezi amidonase* (hidrolizate mai întâi enzimatic, cu obținere de glucoză, maltoză, dextrine) – alcool etilic;
- o *zerul rezultat de la fabricarea brânzeturilor* (cu conținut de 4,7% lactoză) – alcool etilic (agenți de fermentare – drojdii din genul *Kluyveromyces*, producătoare de lactază);
- o *celuloza* (după hidroliza chimică/enzimatică din care rezultă celobioză și cellodextrine) – alcool carburant.

- **concentrația în alcool**: în mediile fermentate cu microbiotă naturală, dacă se ajunge la o concentrație alcoolică de 4-6°, se produce o încetinire a fermentației drojdiilor care nu au rezistență la alcool (*Kloeckera*, *Torulopsis*, *Hansenula*), iar fermentarea este continuată de drojdii alcoolrezistente, până la acumularea a 18-20° alcool (g alcool absolut/100 ml).

2. pH-ul mediului determină două forme ale fermentării:

- o *fermentarea alcoolică propriu-zisă*, ce se desfășoară la pH 3,5-5, când produsul principal este alcoolul etilic și dioxidul de carbon, cu produși secundari în cantități mici;
- o *fermentarea la pH alcalin* când în afară de alcool etilic și dioxid de carbon, se formează în cantitate mai mare glicerol (până la 30% din zahărul fermentat).

Mustul de struguri are un pH acid, 3,6, de aceea la fabricarea vinurilor drojdiile sunt avantajate având cele mai bune condiții de dezvoltare și activitate metabolică.

3. Substanțele chimice existente sau adăugate mediului pot influența procesul fermentativ:

- o *fosfații* au o influență pozitivă deoarece participă la formarea acizilor adenilici și la formarea esterilor fosforici ai glucidelor, forme sub care acestea sunt transportate în celule și fermentate;
- o *dioxidul de sulf* se adaugă în cantități de 200-500 mgxdm³ pentru a favoriza activitatea drojdiilor fermentative, care spre deosebire de alte drojdii sunt sulferezistente.

4. Temperatura. Enzimele sistemului zimazic prezintă un optim de activitate (determinat genetic).

- o 28-30 °C, pentru drojdia de spirt și panificație (*S. cerevisiae*);
- o 15-20 °C, pentru drojdiile de vin (*S. cerevisiae* var. *ellipsoideus* și *oviformis*), care produc o fermentare mai lentă, dar conduc la obținerea unui vin de calitate, deoarece la temperaturi mai scăzute se evită pierderile de substanțe volatile;
- o 6-12 °C, pentru drojdia de bere (*S. carlsbergensis*).

Biochimismul formării produșilor principali și secundari în fermentația alcoolică propriu-zisă

Conversia prin fermentare în mediu acid a glucidelor, catalizată de către enzime din drojdi, se desfășoară în 5 etape:

1. transformarea diferitelor tipuri de glucide în *esteri ai glucozei* și formarea esterului *fructo-furanozo-1,6-difosfat*. Se consumă energie prin transformarea ATP-ului în ADP;
2. formarea *triozelor*: *aldehidă fosfoglicerică* și *fosfodioxiacetonă*;
3. transformarea triozei până la formarea de *acid piruvic*. Energia eliberată în procesul de oxidoreducere este înmagazinată prin procesul de fosforilare;
4. decarboxilarea acidului piruvic și formarea de *aldehidă acetică*;
5. aldehida acetică se reduce devenind acceptor de hidrogen și se formează *alcoolul etilic*.

Reacția globală a fermentației alcoolice în mediu acid este:



Formarea produșilor secundari

În fermentația alcoolică rezultă o diversitate de produși secundari.

În vinuri au fost identificate prin cromatografie 300-500 de substanțe diferite care rezultă prin fermentare sau depind de compoziția mediului.

Principalii produși secundari sunt:

- *glicerolul*, care se acumulează în cantități de 3,3 g/100 g glucoză fermentată și are un rol benefic asupra calității vinului, conferindu-i „*catifelaj*”;
- *aldehidele*, din care cea mai importantă este aldehida acetică și la concentrații ce depășesc 2,5 mg/dm³ influențează indirect gustul vinului, deoarece prin oxidare duce la formarea de acid acetic;
- *acizii*, care provin din must și din procesul fermentativ; ei dau aciditate vinului (acid acetic, formic, propionic, butiric) precum și o aciditate fixă (acid lactic, succinic), care se regăsește în aciditatea totală a vinului.

Acidul lactic se poate acumula în cantități de 20 mg/dm³, iar acidul acetic se acumulează în cantități de 80-120 mg/dm³. Prin formarea esterilor (acetat de etil), gustul vinului este depreciat. Acidul succinic se formează din zahăr sau din aminoacizi și poate reprezenta 0,7% din cantitatea de zahăr fermentată.

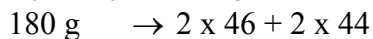
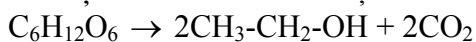
- *alcooli superiori*, care rezultă din surse hidrocarbonate și din aminoacizi.

La fabricarea spirtului se acumulează următorii alcooli superiori: amilic, izoamilic, propanolol (contribuie la formarea unor substanțe de aromă). Alcooli superiori distilați la 130°C formează o fracțiune numită ulei de fuzel, folosit în industria vopselelor.

La fabricarea vinului, cantitatea de alcooli superiori este de 250 mg/dm³. Ei sunt precursori de aromă: din fenilalanină se formează alcool feniletic, care dă aromă de trandafir.

- *diacetilul și acetona* se formează atunci când numărul de celule de drojdie este prea mare. La concentrații de $0,4 \text{ mg/dm}^3$ dă gust de diacetil, iar la concentrații mai mari dă gust neplăcut, mai ales la bere.
- *mercaptanii*, apar când gruparea OH din alcoolii este înlocuită cu gruparea SH. Prezența acestor substanțe dă gust neplăcut și se datorează acțiunii unor drojdii cu calități nedorite.

Bilanțul masic al fermentației alcoolice este următorul:



$$\eta_{\text{teoretic}} = (92/180) \times 100 = 51,1.$$

Randamentul practic este de $(0,64-0,67) \times \eta_{\text{teoretic}}$, deoarece nu toată cantitatea de zahăr este transformată în alcool. O parte din zahăr este transformată în produși secundari, în produși de biosinteză intracelulari (biomasă), iar o altă cantitate este transformată prin respirație în produși finali.

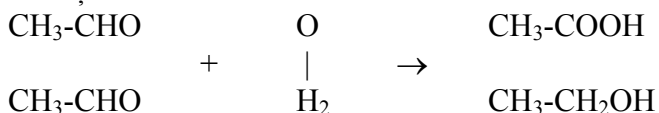
Bilanțul energetic al fermentației alcoolice.

Din punct de vedere energetic, fermentația alcoolică nu este avantajoasă pentru celula de drojdie, deoarece, în anaerobioză, prin fermentarea unui mol de glucoză celula consumă 2 moli de ATP (în etapa de formare a esterilor fosforici), apoi înmagazinează energia eliberată în 4 moli de ATP, astfel încât câștigul este de 2 moli ATP/mol glucoză fermentată.

Energia potențială a glucozei se regăsește în proporție de 92,5% în alcool etilic (alcoolul etilic are o putere mare energetică, de 1363 kJ/mol alcool), 2,5-3% din energie este înmagazinată în ATP, iar restul se regăsește în produse secundare sau se pierde sub formă de căldură.

Fermentația în mediul alcalin

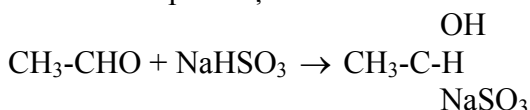
Este o derivată de la fermentația propriu-zisă, atunci când pH-ul mediului este alcalin. Acest lucru se obține prin adăugare de Na_2CO_3 3%, iar din glucoză se formează alcool etilic, glicerol, acid acetic și dioxid de carbon. Formarea glicerolului în cantități mai mari este datorată reacțiilor de oxidoreducere ale aldehidei acetice în mediu alcalin (reacție Canizzaro):



Cultura de *Zygosaccharomyces acidifaciens*, folosită în primul război mondial la obținerea glicerinei (folosită la obținerea nitroglicerinei), poate produce prin fermentarea glucidelor, în mediu alcalin, aproximativ $30 \text{ g glicerol/dm}^3$.

Fermentația sulfitică

Poate avea loc la păstrarea marcurilor de fructe în prezența SO_2 (sulfit), când aldehida acetică formează în prezența sulfitului de sodiu un compus sulfitic:



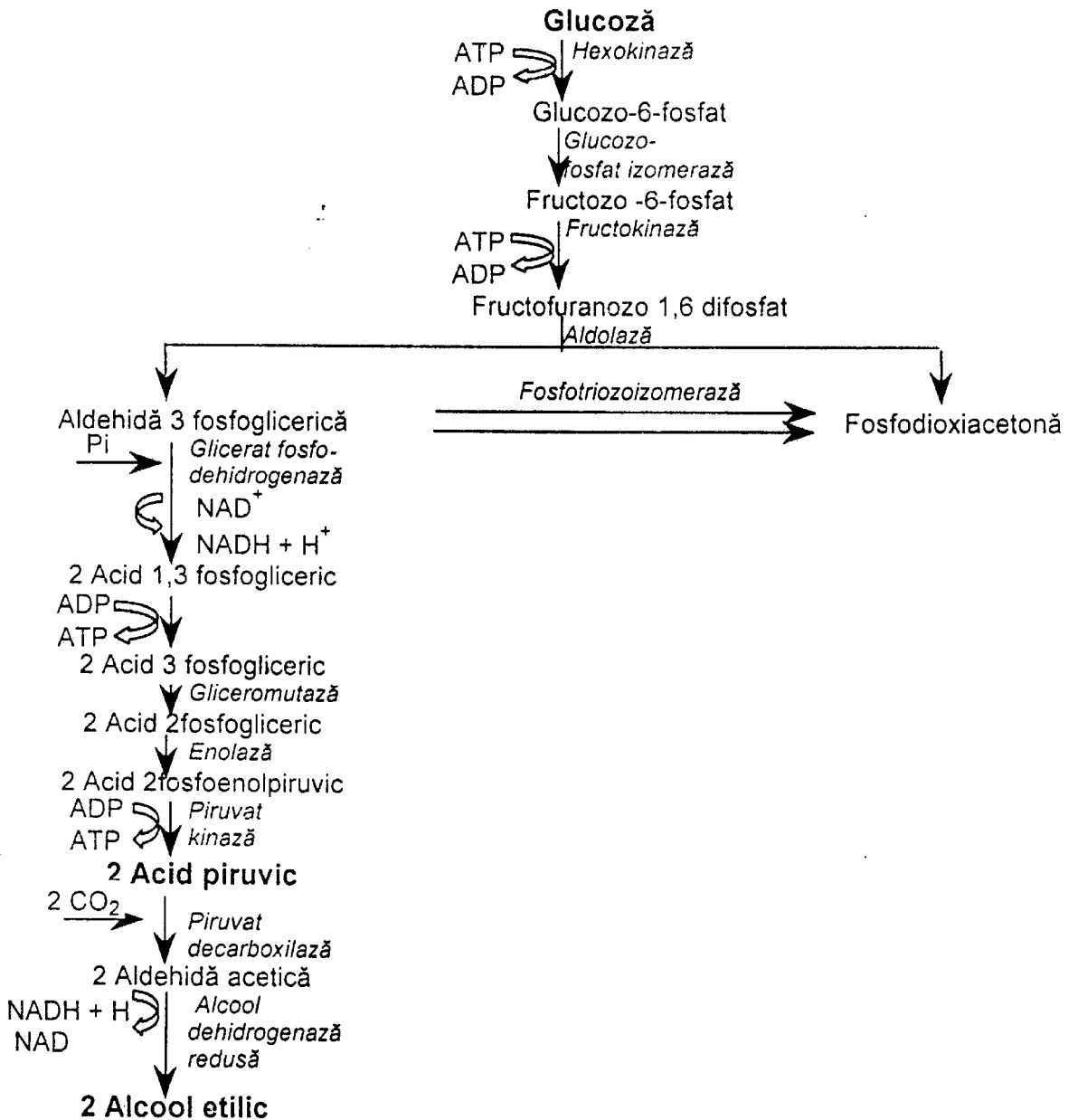
În aceste condiții se reduce cantitatea de alcool etilic și crește cantitatea de glicerol.

În afară de aspectele pozitive ale fermentației alcoolice (fabricarea spiritului, vinului, distilatelor, berii, pâinii), aceasta poate prezenta și aspecte negative, atunci când se produce fermentarea spontană a unor produse bogate în zahăr (siropuri, dulceturi, compoturi, miere). În acest caz fermentarea este determinată de drojdii osmotolerante, care produc prin fermentare alcool etilic, CO_2 și o cantitate apreciabilă de acid acetic, alterând produsele.

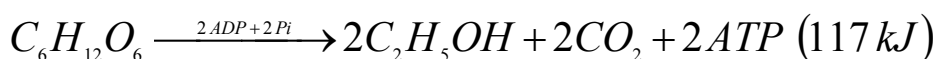
Fermentații alcoolice neconvenționale produse de bacterii

Există bacterii care pot produce cantități apreciabile (10⁰ alcool): *Bacillus macerans*, *Leuconostoc*, *Clostridium acetono-etilicus*, *Zymomonas mobilis*, *Z. anaerobica* și care pot fi folosite la fermentarea derivatelor celulozice, pentru obținerea de alcool carburant. Acești alcooli au întrebuințări industriale, nu și alimentare, deoarece bacteriile nu produc și substanțe secundare de aromă, iar randamentul de conversie este mai mic decât al drojdiilor.

BIOCHIMISMUL FERMENTAȚIEI ALCOOLICE



REAȚIA GLOBALĂ A FERMENTAȚIEI ALCOOLICE ÎN MEDIU ACID



Fermentația lactică

Fermentația lactică este un proces anaerob prin care glucidele fermentescibile sunt metabolizate sub acțiunea echipamentului enzimatic al microorganismelor în acid lactic ca produs principal și produse secundare, cum ar fi: diacetil, acetonă, acid acetic, alcool etilic și CO₂.

Calea metabolică de producere a acidului lactic este frecvent întâlnită în lumea microbiană. Randamente superioare de convertire a glucidelor în acid lactic sunt întâlnite la bacterii și mucegaiuri.

Bacteriile lactice, considerate agenți tipici ai fermentației, sunt folosite industrial în biotehnologii alimentare, la industrializarea laptelui și a cărnii, în panificație, la conservarea produselor vegetale și la obținerea acidului lactic.

Mucegaiurile selecționate ale genurilor *Aspergillus*, *Penicillium* și *Mucor* pot fi cultivate submers cu aerare dirijată, pentru obținerea industrială a acidului lactic. În condiții naturale, acidul lactic se poate forma și în țesutul muscular prin procesul de glicoliză, prin secvențe biochimice catalizate de enzime similare cu cele ale celulei microbiene.

Caracterele morfo-fiziologice generale ale bacteriilor lactice.

Bacteriile lactice sunt foarte răspândite în natură în diferite biotopuri; aparatul foliar al plantelor, microbiota intestinală (în primii ani de viață sau când în alimentație predomină laptele), cavitatea bucală, suprafața pielii. Dintre sursele alimentare permanente asociate cu bacteriile lactice amintim laptele, în care bacteriile lactice prezente pe canalele galactofore sunt antrenate la mulgere, și legumele (varză, castraveți ș.a.).

Caracterele morfologice.

Bacteriile lactice prezintă heterogenitate morfologică; principalele forme sunt derivate de la forma coccus: streptococi (genul *Lactococcus* și *Streptococcus*), diplococi (genul *Leuconostoc*), tetrade (genul *Pediococcus*). Numeroase alte bacterii lactice se prezintă sub formă cilindrică, de bastonașe cu dimensiuni variabile, izolate sau formând lanțuri lungi (genul *Lactobacillus*).

Caracterele fiziologice.

Bacteriile lactice sunt pretențioase din punct de vedere nutritiv și înmulțirea lor are loc în medii cu compoziție chimică complexă.

Ca surse de carbon și energie, bacteriile lactice pot să producă asimilarea sau fermentarea pentozelor (riboză, xiloză, arabinoză), a hexozelor (glucoză, galactoză), a diglucidelor (lactoză, maltoză, zaharoză). Dintre acizi, acidul malic poate fi transformat în acid lactic, iar acidul citric în acetonă și diacetil. Acidul lactic nu poate fi folosit de către bacteriile producătoare și acumularea sa prin fermentare conduce la inhibarea înmulțirii și la încetinirea vitezei de fermentație. Ca surse de azot, bacteriile lactice preferă aminoacizi, peptide și amide, fără să poată folosi sărurile amoniacale. Bacteriile lactice au enzime proteolitice intracelulare, care pot avea un rol pozitiv la maturarea brânzeturilor, după eliberarea lor din celulele autolizate. Specia *Lactobacillus casei* poate produce o hidroliză enzimatică a cazeinei.

Bacteriile lactice, în general, și cete termofile, în special, necesită prezența în mediu a unor factori de creștere (vitaminele: B₂ și B₆, biotina, acidul para-amino-benzoic, acidul folic, acidul pantotenic). Bacteriile lactice sunt acidotolerante, valorile minime de pH la care are loc creșterea fiind de 4,3 - 4,8, pentru lactococi, și 3,8 - 4,4, pentru lactobacili, cu valori optime în domeniul de pH = 4 - 6.

În report cu oxigenul din aer, bacteriile lactice sunt anaerobe sau facultativ anaerobe. Prin creștere în medii lichide (bere, vin, sucuri) dau o turbureală persistentă și acire, iar prin dezvoltarea în lapte produc coagularea acidă a cazeinei când pH-ul se reduce la 4,6, ca urmare a formării de acid lactic. Bacteriile lactice sunt adaptate să crească într-un domeniu larg de

temperaturi (0...55 °C), cu valori optime în domeniul mezofil (20...25 °C - streptobacterii, 30...35 °C - lactococi) sau termofil (35...45 °C - lactobacterii). Sunt bacterii nesporulate și pot fi inactivate pe cale termică la temperaturi mai mari de 65 °C (în 30 de minute) sau la 72...74 °C, în 15-20 de secunde (regim de pasteurizare a laptelui).

Caracterele taxonomice și clasificarea bacteriilor lactice.

După punerea în evidență a bacteriilor lactice de către Louis Pasteur, în 1875, ca agenți de acire ai berii, mulți cercetători au studiat aceste bacterii atât de răspândite în natură.

O clasificare de referință aparține lui **Orla Jensen (1919)**, care împarte bacteriile lactice în două mari grupe:

- bacterii lactice adevărate, Gram-pozitive, facultativ anaerobe, care produc numai acid lactic cu un randament de 90-100% din zahărul consumat.

Genurile mai importante sunt *Thermobacterium* și *Streptobacterium*, în care erau incluși lactobacilii, streptococii lactici (genul *Streptococcus*), precum și reprezentanții genurilor *Betacoccus* (actual *Leuconostoc*) și *Tetracoccus* (actual *Pediococcus*);

- pseudofermenți lactici (bacterii lactice atipice), care produc prin fermentație cantități mici de acid lactic, și, în cantități superioare, gaze: CO₂, H₂, acid acetic ș.a. Sunt bacterii Gram-negative, aerobe. În această grupă erau incluse bacteriile coliforme cu genul *Escherichia* și *Aerogenes* (actual *Enterobacter*).

O altă clasificare, cea a lui Bergey, separă bacteriile lactice adevărate în familia *Lactobacteriaceae*, în timp ce bacteriile coliforme se regăsesc în familia *Enterobacteriaceae*.

Cea mai recentă clasificare aparține lui Kandler și Weiss (1986), care, în afară de proprietățile fiziologice și tinctoriale ale bacteriilor lactice, are la bază cunoașterea procentuală a conținutului de guanină și citozină din structura acizilor nucleici, criteriu taxonomic stabil, pe baza căruia s-au putut constata similitudini sau diferențieri între speciile cunoscute. Conform acestei clasificări, bacteriile lactice sunt incluse în familia LACTOBACTERIACEAE cu mai multe genuri:

1. Genul *Streptococcus* cuprinde:

- grupul streptococilor lactici incluși în genul *Lactococcus* cu speciile: *Lactococcus lactis*; *Lactococcus lactis* biovar *diacetylactis*; *Lactococcus lactis* biovar *acetoinicus* și *Lactococcus cremoris* (sin. *Str. cremoris* - streptococul smântânii);
- grupul viridans, bacterii ce aparțin genului *Streptococcus*, având ca specii importante pe: *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* (SST) (sin. *Streptococcus thermophilus*) cultură folosită la fabricarea iaurtului și *Streptococcus bovis*;
- grupul streptococilor fecali, denumiți și enterococi, cu specia reprezentativă *Streptococcus fecalis*;
- grupul streptococilor patogeni, cu speciile *Streptococcus pyogenes* (agentul scarlatinei) și *Streptococcus agalactiae* (agentul mastitei, transmisibil prin laptele colectat de la vaci bolnave).

2. Genul *Lactobacillus* (sin. *Lactobacterium*) include aproximativ 50 de specii clasificate în funcție de temperatura optimă de activitate și de modul de fermentare a glucidelor în **homofermentativi** - lactobacili care produc numai acid lactic și cantități minore de substanțe de aromă - și **heterofermentativi** - lactobacili producători de acid lactic, acid acetic, diacetil, CO₂.

Lactobacilii homofermentativi se pot clasifica astfel:

- termofili (T₀ = 40...50 °C):
 - *Lactobacillus delbrueckii* subspecia *delbrueckii*;
 - *Lactobacillus delbrueckii* subspecia *lactis*;
 - *Lactobacillus delbrueckii* subspecia *bulgaricum* (LDB);
- mezofili (T₀ = 30...35 °C):
 - *Lactobacillus acidophilus*;
 - *Lactobacillus helveticus*.

Lactobacilii facultativ heterofermentativi mezofili sunt:

- *Lactobacillus casei*;
- *Lactobacillus sake*.

Lactobacili heterofermentativi mezofili sunt:

- *Lactobacillus brevis*;
- *Lactobacillus, Lb. fermenti*;
- *Lb. inulinus* (sin. *Sporolactobacillus inulinus*);
- *Lb. bifidum* (sin. g. *Bifidobacterium bifidus*).

3. Genul *Leuconostoc* include bacterii sub formă de coci, diplococi, heterofermentative mezofile - produc prin fermentație acid lactic, alcool etilic, CO₂, iar prin biosinteză, poliglucidele de tip dextran.

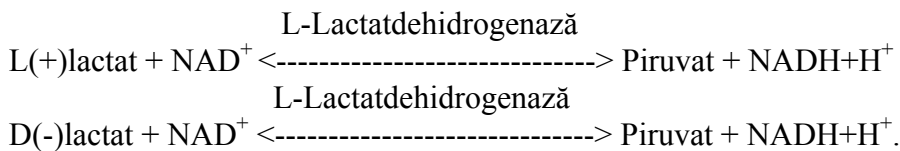
Dintre speciile cu importanță practică se amintesc: *Leuconostoc cremoris*, *Leuconostoc citrovorum* și *Leuconostoc paracitovororum*, bacterii care pot folosi ca surse de carbon citrații; și subspeciile lui *Leuconostoc mesenteroides* și *Leuconostoc dextranicum*, producătoare de dextran prin conversia zaharozei și polimerizarea dextrozei.

4. Genul *Pediococcus* include bacterii lactice homofermentative, mezofile, cu temperatura optimă la 30 °C, cu speciile: *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus cerevisiae*.

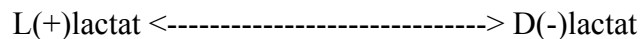
Căi de formare a produșilor principali și secundari în fermentația lactică.

Biochimismul formării produșilor de fermentație diferă în funcție de echipamentul enzimatic al bacteriilor lactice și de sursele de carbon fermentescibile.

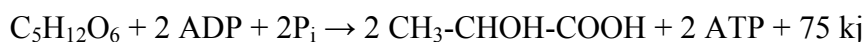
Bacteriile lactice homofermentative produc fermentarea anaerobă a hexozelor pe calea Embden - Mayerhof - Parnas (EMP) până la formarea acidului piruvic, apoi, fiind lipsite de enzima piruvat decarboxilază, reduc acidul piruvic, obținându-se acidul lactic sub acțiunea a două lactatdehidrogenaze care necesită NAD/ NADP în calitate de coenzime:



În fermentația homolactică forma predominantă a acidului lactic este dependentă de stereospecificitatea lactatdehidrogenazei [lactococii formează L (+)-lactat și lactobacilii D (-) lactat], dar și de prezența lactat racemazei, care, atunci când este activă în celula microbiană rezultă prin fermentație, amestecul racemic (D, L-lactat), conform reacției:

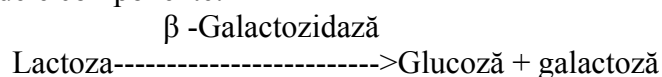


Ecuția globală a fermentației homolactice este următoarea:



Pentru a fi fermentate, glucoza, galactoza și lactoza pot fi transportate ca atare în celulă, printr-un sistem activ de permeaze prezent la *Streptococcus salivarius* subspecia *thermophilus* și lactobacilii termofili, sau prin transport activ catalizat de sistemul fosfotransferază - fosfoenolpiruvat (PT-PEP) prezent la bacterii ale genului *Lactococcus* și *Lactobacillus sp.*, cu formarea esterilor fosforici.

Lactoza sau lactozo-P în celula bacteriană sub acțiunea β-galactozidazei (lactazei) este transformată în glucidele componente:



În timp ce glucoza este metabolizată direct pe calea EMP, galactoza este transformată pe următoarele căi metabolice:

- a) calea D-tagatozei 6P (genul *Leuconostoc*);
- b) calea Leloir (*SST, LDB, Leuconostoc*);
- c) calea glicolică (Embden Mayerhof Parnas) de fermentație a glucozei.

În fermentația homolactică se pot forma, în cantități mici, substanțe de aromă, diacetil și acetonă, fie prin metabolizarea glucidelor, fie a citraților care asigură o sursă suplimentară de acid piruvic.

Bacteriile lactice heterofermentative produc fermentația anaerobă a glucidelor (pentoze, hexoze) pe calea pentozo-fosfatului (6P-gluconatului).

În funcție de specie diferă și natura produselor de fermentație:

- *Lactobacillus brevis* produce acid lactic, acid acetic și CO₂;
- *Leuconostoc mesenteroides* produce acid lactic, etanol și CO₂;
- *Lactobacillus bifidus* produce fermentare heterolitică pe calea fructozo 6P, fără formare de CO₂.

Bifidobacteriile, care reprezintă 95% din microflora intestinală a sugarilor, pot fi folosite pentru obținerea unor produse lactate cu efect terapeutic (produse probiotice).

Aplicații practice ale fermentației lactice.

Acidul lactic are multiple întrebuințări:

- în industria alimentară pentru acidifierea sucurilor și esențelor de fructe, limonadelor, bomboanelor;
- în medicină, sub formă de lactați de Ca și Fe, substanțe ușor asimilabile de către organismul uman;
- în industria chimică – mordant la colorarea și imprimarea mătăsii și a diferitelor textile;
- în industria pielăriei;
- în industria panificației, paralel cu fermentația alcoolică produsă de drojdia de panificație în aluat are loc activitatea fermentativă a bacteriilor lactice din microbiota făinii sau a culturilor selecționate, contribuind la formarea aromei și la creșterea în volum a pâinii;
- în industria extractivă, la fabricarea amidonului, în timpul operației de înmuiere a porumbului, prin adăugarea de SO₂ este inhibată dezvoltarea bacteriilor butirice și este favorizată dezvoltarea unei fermentații lactice; lichidul obținut de la înmuierea porumbului se folosește în formă concentrată ca adaos la obținerea mediilor de cultură a microorganismelor în industriile fermentative;
- în industria laptelui bacteriile lactice, în special cele homofermentative, sub formă de culturi pure selecționate, sunt folosite la obținerea produselor lactate acide: lapte acru, sana, chefir, lapte acidofil, iaurt, smântână fermentată, a untului și la fabricarea brânzeturilor;
- prin fermentația lactică spontană determinată de bacteriile lactice din microflora epifită a plantelor, se pot conserva prin murare varza, castraveții, tomatele, măslinile și poate avea loc însilozarea furajelor verzi;
- în vinificație bacteriile lactice pot avea un efect pozitiv, reducând aciditatea vinurilor prin transformarea acidului malic în acid lactic;
- fermentația lactică spontană nederijată poate avea și un efect negativ, ducând la alterarea unor produse (acrirea berii, borșirea vinului) sau pierderi de zaharoză la difuziune, în industria zahărului.

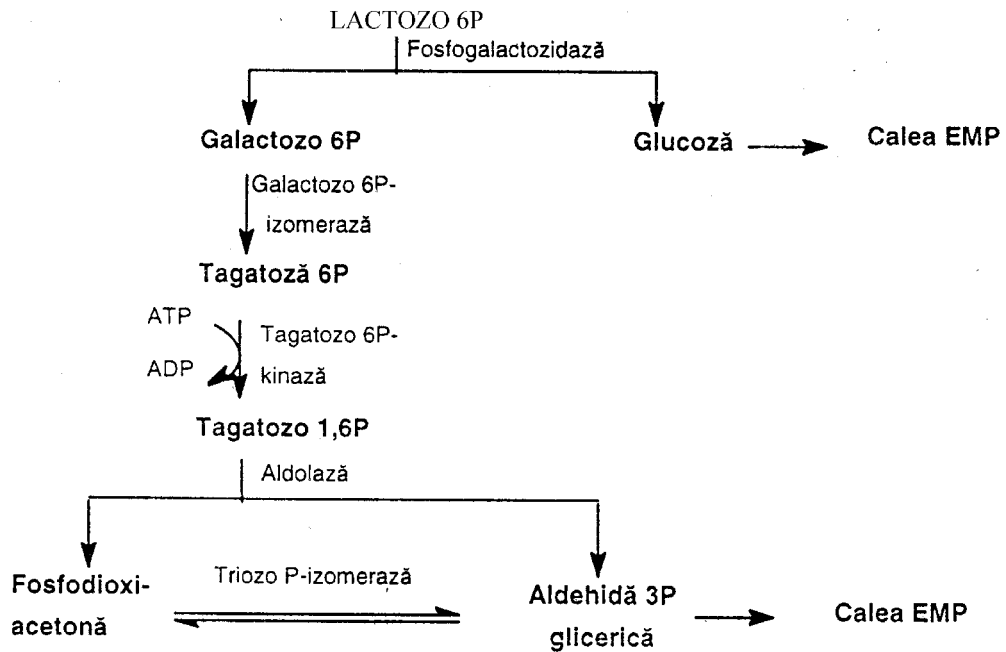
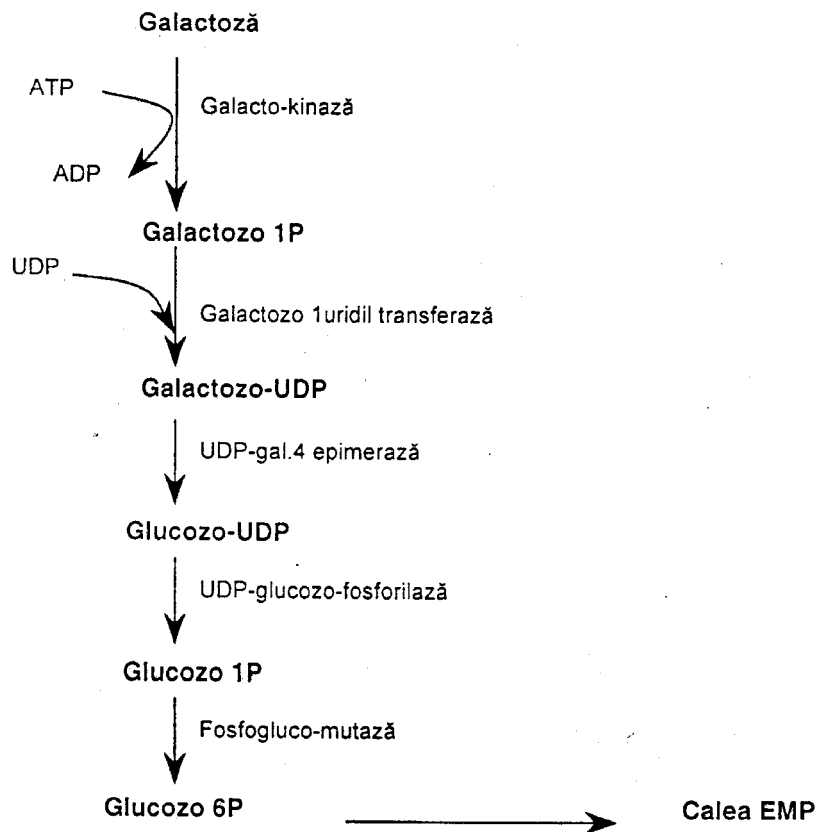
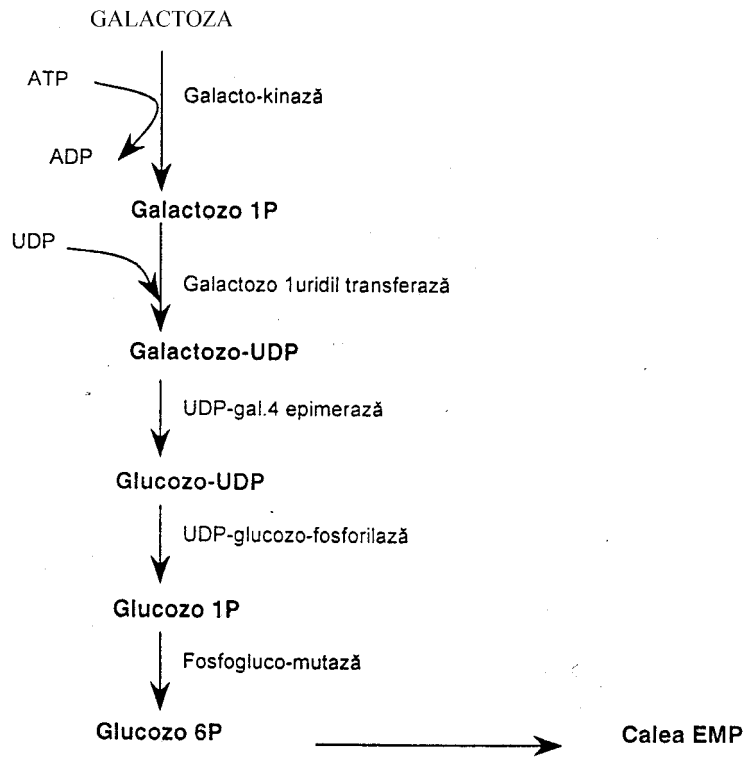
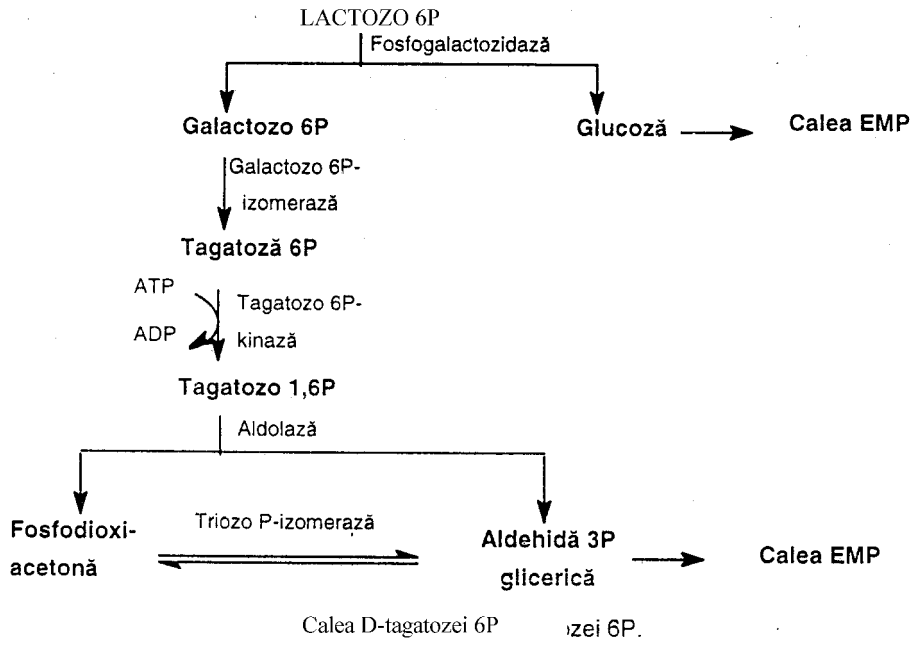


Fig. 1.22. Calea D-tagatozei 6P.



Calea Leloir de metabolizare a galactozei



PROCESE METABOLICE AEROBE (FERMENTAȚII OXIDATIVE)

Spre deosebire de fermentațiile propriu-zise anaerobe, fermentațiile *acetică*, *gluconică*, *citrică* ș.a. sunt procese oxidative simple, care se desfășoară în condiții aerobe și se diferențiază de metabolismul oxidativ (respirație) prin aceea că oxidarea este limitată, rezultând în condiții industriale acizi organici cu mare valoare economică.

Fermentația acetică

Fermentația acetică este un proces aerob prin care substratul (alcoolul etilic) este oxidat în prezența oxigenului din aer, sub acțiunea echipamentului enzimatic al bacteriilor acetice, în acid acetic ca produs principal al fermentației.

Caracterele morfologice și fiziologice ale bacteriilor acetice. Bacteriile acetice sunt bacterii strict aerobe, sub formă de bastonașe, gram-negative, grupate în perechi sau lanțuri, cu dimensiuni variabile (0,5-0,8)x(80,9-4,2) μm. Pot fi imobile sau mobile, cu cili polari sau peritrichi. În mediu acid, în timp, pot apărea forme de involuție, ramificate, care își pierd capacitatea de reproducere.

În medii lichide (staționar) se dezvoltă sub forma unui voal fragil care, cu creșterea în dimensiuni, ascensionează pe pereții vasului (*Acetobacter ascendens*, *A. aceti*). Alte specii, *A. xylinum*, *A. xilinoidea* formează, în vin oțet sau în oțet, un strat gelatinos de natură β-gluconică (coloidal și fibros).

Bacteriile acetice sunt mezofile (temperatura optimă 30 °C) și produc fermentația acetică într-un domeniu larg de temperaturi, 0...35 °C. Au o termorezistență scăzută în mediu lichid cu pH acid, inactivitatea lor având loc la 60 °C într-un minut, în timp ce bacteriile reținute pe suporturi solide (doage de lemn) sunt inactivate la temperaturi mai ridicate (100 °C).

Bacteriile acetice tolerate la acid și concentrații de până la 2° acetice activează creșterea celulară. Rezistența la acid acetic se poate explica prin aceea că membrana acestor bacterii are un conținut ridicat de acizi grași saturați, fiind relativ impermeabilă la acid acetic. Valoarea optimă de pH pentru creștere este 5,5 și pH-ul limită 2,5.

Echipamentul enzimatic, deosebit de complex (printre care dehidrogenaze localizate în sisteme membranare cuplate cu lanțul citocromic, enzime ale ciclului Krebs ș.a.), permite oxidarea a aproximativ 80 de compuși (alcooli, glucide, acizi organici).

Dintre sursele de carbon utilizate preferențial, alcoolul etilic este oxidat la acid acetic, iar glucoza la acid gluconic, acid 5-cetogluconic, acid 2,5-cetogluconic.

Bacteriile din genul *Acetobacter* pot să oxideze și acetatul când alcoolul etilic a fost consumat din mediu, deoarece alcoolul etilic inhibă activitatea enzimelor de oxidare a acetatului la CO₂ și H₂O. Acidul acetic inhibă propria sa oxidare la concentrații mai mari de 8° acetice, la pH = 3.

Ca surse de azot, bacteriile acetice, pot să folosească sărurile de amoniu, aminoacizii și peptidele. De aceea ele se pot dezvolta în medii minerale numai dacă se adaugă extract de drojdie. Bacteriile acetice necesită pentru creștere vitaminele: acid paraaminobenzoic, niacină, tiamină și acid pantotenic.

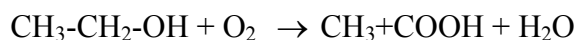
Bacteriile sunt răspândite în natură pe produse vegetale (fructe, frunze, flori) și transportul lor este favorizat de insecte (*Drosophilla melanogaster* – musculița de oțet) și nematode (*Anquvilula aceti*).

Clasificarea tehnologică a bacteriilor acetice, propusă de W. Hennerberg în patru grupe, în funcție de cantitatea de acid acetic produsă, concentrația de alcool din mediu și biotop, este următoarea:

- bacterii acetice din plămadă: *Gluconobacter suboxidans* și *Acetobacter industrium*;

- bacterii acetice din bere: *A. aceti* – suportă 11 % alcool și poate produce 6,6% acid acetic și *A.pasteurianum* – suportă 9,5% alcool și produce 6,2% acid acetic. Alte specii: *A.kützingianum*, *A. rancens*;
- bacterii acetice din vin: *A. orleans* – poate produce 9,3% acid acetic; *A. xilinum* – suportă 7% alcool și produce 4,5° acid acetic și alți produși secundari;
- bacterii acetice de fermentație rapidă, izolate din acetatoare: au o mare capacitate de acidifiere, cu speciile *A. schützenbachii* (11-14° acetice), *A. acetigenum*, *A. curvum*.

Fermentația acetică se desfășoară după reacția globală:



Din punct de vedere energetic, prin oxidarea alcoolului etilic rezultă o energie de 455 kJ/mol (6 moli ATP).

Alcoolul etilic este oxidat în aldehydă acetică în prezența alcooldehidrogenazei. Are loc legarea chimică a unui mol de apă și se formează acetaldehida hidratată, care, în prezența aldehyd-dehidrogenazei, cedează 2H^+ care este transferat de către enzimele catenei respiratorii celulare pe oxigenul molecular, acumulându-se acid acetic – produsul principal al fermentației.

Importanța practică a fermentației acetice. Fermentația acetică este utilizată industrial la fabricarea oțetului, când se pot folosi ca materii prime soluții alcoolice, vin, cidru sau materii prime amidonoase (în prealabil zaharificate și fermentate alcoolice cu drojdii). Fermentația acetică are loc în aparate numite acetatoare. Un acetator simplu este format dintr-un vas tronconic înalt, umplut cu rondele de stejar, prevăzut cu sistem de aerare și recirculare a mediului de cultură, până la atingerea concentrației de 9-10 grade acetice. La pornirea fermentației se face sterilizarea rondelilor și pulverizarea suspensiei de bacterii acetice, care rămân fixate în fibrele lemnoase și, în prezența mediului răspândit uniform și a aerului, produc oțetul. În acest procedeu randamentul de conversie a alcoolului la acid acetic este de 75-80%. Performanțe superioare se obțin cu generatorul de oțet Frings și cu alte sisteme în care randamentul de conversie este de 95%.

După obținere, oțetul își îmbunătățește calitățile senzoriale, ca urmare a reacțiilor de esterificare și de formare a compușilor de aromă.

Fermentația acetică spontană, întâlnită la fermentarea boabelor de cacao, are un rol pozitiv în formarea compușilor de aromă și la obținerea unor boabe de calitate superioară.

Bacteriile acetice *A. xilinum* pot fi folosite pentru obținerea de β -glucani, utilizați la fabricarea de membrane filtrante din acetat de celuloză.

Gluconobacter suboxidans poate fi folosit pentru oxidarea manitolului în fructoză și a glicerolului în dihidroxilacetonă, utilizată în cosmetică.

Fermentația acetică a vinului și berii păstrate cu „gol de aer” conduce la deprecierea calității acestor băuturi. Deși bacteriile acetice aerobe se dezvoltă la suprafață, acirea are loc în întregul volum. Acidul acetic format sub voal are o densitate mai mare decât a alcoolului, ceea ce conduce la o circulație a compușilor reactanți care conduce la acirea totală a produsului.

Fermentația gluconică

Fermentația gluconică este un proces oxidativ simplu prin care glucoza, în prezența oxigenului din aer și a sistemului enzimatic al microorganismelor selecționate, este transformată în acid gluconic ca produs principal.

Agenții tipici ai fermentației gluconice sunt bacteriile din genurile *Gluconobacter* (*Acetomonas*) și *Moraxella* și mucegaiurile din genurile *Aspergillus* (*A. niger*, *A. phoenicis*, *A. Wentii*) și *Penicillium* (*P. chrysogenum*, *P. luteum*).

Importanța practică a fermentației gluconice. Acidul gluconic se obține pe cale fermentativă prin culturi de suprafață, folosind ca substrat melasa diluată cu 10-20%

zaharoză, repartizată în tăvi cu suprafață mare. Procesul este lent, de aceea a fost înlocuit cu metode submerse cu aerare, în bioreactoare în care procesul este accelerat și randamentul de conversie al glucozei la acid gluconic este de 80-90%, în timp de 18 ore, la 25-30°C și la pH=3. Prin adăugare de carbonat de calciu se formează gluconatul de calciu, din care, prin procedee chimice, se purifică acidul gluconic.

Principalele aplicații ale acidului gluconic sunt următoarele:

- folosirea gluconatilor de Ca, Fe, în terapeutică;
- obținerea prafului de copt;
- folosirea glucono-lactonei, produs intermediar al fermentației, în industria preparatelor de carne, cărora le conferă un gust acrișor, împiedicând, în același timp, activitatea bacteriilor de putrefacție și menținând culoarea roșie naturală a compoziției salamurilor (tip Tivoli);
- folosirea în amestec a acidului gluconic cu soda caustică pentru îndepărtarea rapidă a sărurilor insolubile de magneziu;
- folosirea acidului 2 ceto-gluconic la obținerea acidului D-araboascorbic, substanță cu efect antioxidant, care previne rănecizarea alimentelor cu conținut ridicat de lipide.

Fermentația citrică

Fermentația citrică este un proces oxidativ complex prin care substratul glucidic (zaharoza) este metabolizat la compuși intermediari de oxidare, cu acumulare în mediu a acidului citric ca produs principal.

Agenți tipici ai fermentației citrice sunt tulpinile selecționate ale speciei *Aspergillus niger* care produc activ citrat sintetază. Acidul citric se poate obține cu un bun randament (52 g/dm³) și prin cultivarea tulpinilor de drojdii din specia *Candida oleophilla* pe medii cu parafine.

Producerea industrială a acidului citric. Producerea acidului citric cu ajutorul mucegaiurilor din genul *Aspergillus* este cunoscută din 1913 (patent Zahoski) și aplicarea industrială în 1923 se datorează cercetărilor efectuate de Currie. În 1928 s-a construit o fabrică la Praga. În țara noastră există fabrica de acid citric de la Giurgiu, care, prin procedeul de culturi de suprafață, asigură necesarul de acid citric pentru industria alimentară.

Mediile cu melasă diluată, tratate cu ferocianură de potasiu, după sterilizare și răcire în tavă, se inoculează cu spori de *A. niger* (3-4 g spori/100 m² suprafață mediu) și fermentarea are loc la 30-35°C. La suprafață se dezvoltă o dermată cutată prin creșterea aerobă a miceliului vegetativ și reproducător. Fermentația durează 6-8 zile, cu un randament de conversie a zaharozei în acid citric de 70-72% (1 m suprafață miceliu poate să producă 500-800 g acid citric în 24 h). După separare, biomasa poate fi valorificată ca sursă de enzime/proteine, iar din mediul fermentat se separă, prin metode fizico-chimice, acidul citric cristalizat.

Acidul citric se poate obține și prin metode submerse în bioreactoare cu aerare dirijată, prin procedee discontinue sau continue, cu reducerea perioadei de fermentație și creșterea randamentului la valori de 80-85% în acid citric.

Importanța fermentației citrice. Acidul citric este principalul acid folosit în industria alimentară pentru fabricarea băuturilor răcoritoare și a produselor zaharoase, în calitate de stabilizant al culorii produselor păstrate în stare congelată și de anticoagulant al sângelui.

În industria farmaceutică intră în componența pulberilor efervescente.

Citratul de sodiu este recomandat în compoziția detergentilor, ca înlocuitor al fosfaților.

Acidul citric sub formă cristalizată, prin încălzire la 170°C, se transformă în acid itaconic utilizat la fabricarea rășinilor schimbătoare de ioni.

Prin fermentații oxidative se mai pot obține și alți acizi de exemplu *acidul fumaric* - cu culturi din genul *Aspergillus* și *Penicillium*, important pentru obținerea aldehidei maleice, materie primă pentru obținerea rășinilor sintetice; *acidul kojic* - obținut prin cultivarea lui *A. oryzae*, folosit ca reactiv în chimia analitică și care intră în compoziția unor insecticide;

acidul ustilagic - obținut cu culturi de micromicete ale genului *Ustilago*, folosit în industria parfumurilor.

Aceste fermentații, care au loc în mod spontan în condiții naturale, favorizează transformarea compușilor organici din materia nevi în compuși mai simpli, accesibili pentru alte grupe de microorganisme, transformări ce permit un circuit natural al carbonului.

TRANSFORMĂRI MICROBIENE ALE COMPUȘILOR ORGANICI MACROMOLECULARI

Se apreciază că prin fotosinteză, energia radiațiilor solare care cad anual pe pământ (echivalentă cu 3×10^{24} J) este convertită în energia chimică a combinațiilor organice, cu acumularea a 2×10^{11} tone C/an. Din această biomasă vegetală, cea mai mare parte o constituie celuloza, substanțele pectice, amidonul și în cantități mai reduse, lipidele, acizii nucleici ș.a.

În condiții naturale după moartea viețuitoarelor vegetale și animale, în diferitele habitaturi (sol, apă) se produc degradări microbiene specifice, cu formare de:

- produși intermediari (condiții de anaerobioză);
- produși finali, ca CO_2 și H_2O (condiții de aerobioză).

În afară de substraturile direct fermentescibile (glucoză, zaharoză, lactoză, acizi organici) microorganismele pot acționa și asupra altor compuși organici, fie în condiții dirijate, când se obțin produse cu valoare economică, fie în condiții naturale, când au loc procese complexe cu rol vital în circuitul natural al elementelor (C, N, O, S, P) și menținerea vieții pe Pământ.

Descompunerea amidonului și a glicogenului

Descompunerea acestor polioze au loc datorită unor microorganisme ce produc enzime extracelulare, care produc hidroliza acestor compuși macromoleculari la molecule simple (glucoză, maltoză) transportabile prin membrană și folosite în nutriție.

Dintre enzimele microbiene care hidrolizează amidonul fac parte: α -amilaza, β -amilaza și glucoamilaza, enzime extracelulare elaborate de bacterii, mucegaiuri și drojdii.

Bacteriile genului *Bacillus* (*B.subtilis*, *B.subtilis* var. *amyloliquefaciens*, *B.licheniformis*, *B.macerans*, *B.sthearothermophilus* sunt producătoare de β -amilază, enzimă zaharogenă care, prin hidroliza legăturilor α 1-4 glucozidice, eliberează molecule de maltoză.

Mucegaiurile *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus* produc mai ales α -amilază și glucoamilază.

Aspergillus niger și *A.oryzae* produc α -amilaze.

Mucegaiurile *A.awamori*, *A.usami*, *A.niger* și *Rhizopus delemar* produc glucoamilază.

Se cunosc peste 100 de specii de drojdii care produc α -amilază și glucoamilază, dintre care mai importante sunt cele din genurile *Saccharomycopsis* (*S.bispora*, *S.fibuligera*), *Schwanniomyces*, *Trichosporon* și *Candida*.

Hidroliza enzimatică a amidonului cu enzime vegetale (din malț) sau cu enzime microbiene, cu formare de glucide fermentescibile, este folosită în biotehnologia spirtului, a berii, a panificației sau pentru obținerea siropurilor dulci, a dextrinelor, a maltozei, a glucozei cristalizate ș.a.

Descompunerea celulozei și hemicelulozei

Celuloza este un poliglucid răspândit în materiile prime de origine vegetală (aproximativ 1/3) și în structura pereților celulari ai fungilor. Celuloza ajunsă în sol și în ape este transformată în timp, sub acțiunea microorganismelor care produc enzime celulozolitice: micromicete-agenți ai putrezirii, bacterii aerobe și anaerobe.

Prođușii intermediari de hidroliză sunt metabolizați în mod diferențiat, în funcție de natura microorganismelor și de prezența/absența oxigenului din aer.

Degradarea aerobă a celulozei se caracterizează prin formarea din celobioză sau glucoză, în prima etapă, a hidroxiacizilor din care, prin oxidare, se eliberează CO₂ și H₂O.

Dintre bacteriile aerobe care asimilează celuloza fac parte bacterii cu forme spiralate aparținând genurilor: *Cytofaga*, *Cellvibrio*, *Cellulomonas*.

Importanță industrială o au bacteriile din genul *Cellulomonas*, care pot fi cultivate aerob pe deșeuri vegetale, pe hârtie ș.a., iar biomasa rezultată prin înmulțire este valoroasă prin conținutul ridicat în proteine (46,2%).

Dintre micromicete au activitate celulozolică superioară specii ale genurilor: *Botryotinia*, *Fusarium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Trichoderma* și *Tricothecium*.

Tulpini selecționate de micromicete ale genurilor *Trichoderma* și *Aspergillus* sunt bune producătoare de celulaze și sunt folosite industrial ca surse de enzime.

Degradarea anaerobă a celulozei are loc permanent în sedimente și în mълul apelor, la fermentarea compostului, în rumenul erbivorelor, în profunzimea solului, în soluri inundate, lacuri termale.

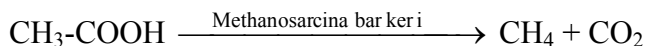
În transformarea celulozei se pot distinge trei etape, în funcție de natura produselor de fermentație.

După hidroliza celulozei la compuși simpli, sub acțiunea unei microbiote heterogene alcătuite din bacterii anaerobe și facultativ anaerobe din familiile *Enterobacteriaceae*, *Bacillaceae* (genul *Clostridium*), se acumulează alcoolii, acizi, CO₂ și H₂.

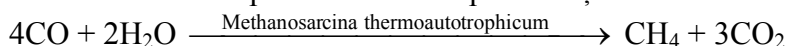
Produsele rezultate în acest stadiu sunt folosite de bacteriile acetogene producătoare de acid acetic pe cale anaerobă, în a doua etapă.

În etapa a treia, denumită metanogenă, sunt active bacteriile metanogene strict anaerobe din genul *Methanobacterium* cu speciile *M.ruminantium*, *M.formicicum*, *M.mobilis*, *M.farkeri* ș.a.

Bacteriile anaerobe pot folosi acidul acetic ca sursă energetică și produc metan. Se apreciază că 73% din metan rezultă din acidul acetic format în faza acetogenă:



Methanobacteriile pot forma metan prin reacția:



În afara acestor procese naturale, care explică formarea zăcămintelor de metan, în ultimele decenii a luat amploare metanogeneza dirijată în scopul obținerii de biogaz, prin prelucrarea microbiologică a dejecțiilor animale, când se realizează concomitent protecția mediului și valorificarea energetică a metanului și a hidrogenului.