

ТЕХНІЧНА МІКРОБІОЛОГІЯ

Конспект лекцій
для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти
освітньо-професійної програми «Харчові технології»
галузі знань G Інженерія, виробництво та будівництво
спеціальності G13 Харчові технології
денної та заочної форм навчання

Луцьк 2025

УДК 664:579.6

T-38

Рекомендовано до видання вченою радою факультету митної справи, матеріалів та технологій ЛНТУ,
протокол № _____ від « ____ » _____ 2025 року.

Голова вченої ради факультету митної справи,
матеріалів та технологій _____ В.В. Ткачук

Електронна копія друкованого видання передана для внесення в репозитарій ЛНТУ

Директор бібліотеки _____ Н.П. Поліщук

Розглянуто і схвалено на засіданні кафедри харчових технологій та хімії ЛНТУ, протокол
№ 4 від « 07 » 12 2025 року.

Завідувач кафедри ХТХ _____ І.М. Дударєв

Укладач:

_____ С.Є. Голячук, кандидат сільськогосподарських наук, доцент
кафедри харчових технологій та хімії ЛНТУ.

Рецензент: _____ Ю.Л. Гунько, кандидат технічних наук, доцент
кафедри харчових технологій та хімії ЛНТУ

Відповідальний за випуск: _____ І.М. Дударєв, доктор технічних наук,
професор, завідувач кафедри харчових технологій та хімії ЛНТУ.

Технічна мікробіологія [Текст]: конспект лекцій для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти освітньо-професійної програми «Харчові технології» галузі знань G Інженерія, виробництво та будівництво G13 Харчові технології денної та заочної форм навчання / уклад. С. Є. Голячук. – Луцьк: ЛНТУ, 2025. – 124 с.

Методичне видання складене відповідно до діючої програми курсу «Технічна мікробіологія» з метою надання методичної допомоги у вивченні даного предмету. Приведені основи теоретичного матеріалу з курсу.

Рекомендовано для студентів спеціальності G 13 Харчові технології денної та заочної форм навчання.

ЗМІСТ

Вступ	4
Лекція 1 Визначення науки «мікробіологія», її об'єкт, мета і завдання вивчення курсу «Технічна мікробіологія».....	5
Лекція 2 Морфологія і систематика мікроорганізмів	10
Лекція 3 Анатомічна будова мікроорганізмів	18
Лекція 4 Розмноження мікроорганізмів	27
Лекція 5 Живлення мікроорганізмів	35
Лекція 6 Мікроорганізми і навколишнє середовище	44
Лекція 7 Біохімічні процеси, що викликаються мікроорганізмами	55
Лекція 8 Взаємовідносини між мікроорганізмами	69
Лекція 9 Перетворення мікроорганізмами сполук азоту	87
Лекція 10 Мікробіологія природного середовища перебування мікроорганізмів	94
Лекція 11 Промислове використання мікроорганізмів	100
Лекція 12 Промислове використання мікроорганізмів	106
Список використаних джерел	120

ВСТУП

Дисципліна «Технічна мікробіологія» входить до переліку нормативних навчальних дисциплін підготовки здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти освітньо-професійної програми «Харчові технології» галузі знань 18 Виробництво та технології спеціальності 181 Харчові технології.

Мікробіологічні процеси визначають технологію багатьох харчових виробництв: хліба, молока, спирту, пива, вина, кондитерських виробів тощо. Харчове виробництво неможливо уявити без мікробіологічного контролю сировини, напівфабрикатів і готової продукції. Для правильного ведення мікробіологічного контролю необхідно оволодіти специфічною методикою досліджень. Це досягається поєднанням теоретичного курсу та лабораторного практикуму, який дозволяє краще засвоїти теоретичний матеріал викладений на лекціях, ознайомитися з фактичним матеріалом на практиці, оволодіти технікою виконання мікробіологічних досліджень.

Вивчення предмету дозволить оволодіти мікробіологічною технікою, самостійно приймати технічні рішення, забезпечувати оптимізацію технологічних процесів та високу якість продукції.

ЛЕКЦІЯ 1

Тема. Визначення науки «мікробіологія», її об'єкт, мета і завдання вивчення курсу «Технічна мікробіологія»

1. Історичний нарис становлення мікробіології.
2. Розповсюдження і роль мікроорганізмів у природі.
3. Сучасний етап та перспективи розвитку технічної мікробіології.

1. Історичний нарис становлення мікробіології.

Мікробіологія – наука про мікроорганізми, тобто про найдрібніші істоти біосфери, про форми живої матерії, що невидимі неозброєним оком. Їх представниками є деякі найпростіші, одноклітинні водорості, мікроскопічні гриби, бактерії, віруси. Мікроорганізми дуже поширені в природі. Вони є у ґрунті, воді, повітрі, на поверхні рослин і тварин, у кишечнику людей і тварин, на всіх предметах навколишнього середовища.

Технічна мікробіологія – одна з найважливіших дисциплін, яка ґрунтується на сучасних досягненнях загальної біології, біохімії, фізіології, біотехнології, генетики й селекції мікроорганізмів і займається всебічним дослідженням життєдіяльності мікроорганізмів, що широко використовуються в промисловості при виробництві різних речовин (вітамінів, антибіотиків, ферментних препаратів, кислот, спиртів та ін.), а також – при переробці сільськогосподарської сировини та її зберіганні.

Основна мета дисципліни – оволодіння теоретичними основами загальної і спеціальної мікробіології, формування наукового світогляду про різноманіття світу мікроорганізмів, їх ролі в природі і господарській діяльності людини.

Засвоєння технічних основ мікробіології орієнтує фахівця на необхідність ретельного дотримання санітарних норм на виробництві, попередження втрат і виготовлення доброякісної продукції.

Дана дисципліна спирається на знання, здобуті студентами у вивченні фізики, неорганічної хімії, вступу до фаху, аналітичної, фізичної, колодної та біологічної хімії.

Першочерговим завданням технічної мікробіології є: засвоєння основних методів вивчення мікроорганізмів – мікроскопування, приготування препаратів різних видів, виділення мікроорганізмів із різних природних субстратів, їх якісний і кількісний облік; оволодіння основами мікробіологічного контролю якості сировини і продукції.

Світ мікробів відкрив у 17 ст. (1676 р.) голландський природознавець Антоній Ван Левенгук. Він виявив і описав представників усіх груп мікроорганізмів – найпростіші, мікроскопічні водорості, дріжджі, всі основні морфологічні форми бактерій – кокові, паличкоподібні, вигнуті тощо.

Наприкінці 20-го століття була розроблена класифікація, згідно якої, всі живі істоти біосфери поділяються на три надцарства:

- акаріоти (без'ядерні) – царство вірусів;

- прокаріоти (доядерні) – царства архебактерій, ціанобактерій та еубактерій;

- еукаріоти (ядерні) – царства рослин, тварин і грибів.

У наступні 150 років було відкрито і описано морфологію сотень нових мікроорганізмів, але їх роль у біології залишалась невідомою.

Другий етап розвитку мікробіології починається з другої половини 19 ст., науковими відкриттями французького вченого Луї Пастера. Саме з його ім'ям пов'язане створення мікробіології як науки. Основні відкриття Пастера такі:

- встановлено, що мікроорганізми є причинами інфекційних хвороб;
- аеробне і анаеробне бродіння це функції діяльності мікроорганізмів;
- запропоновано метод пастеризації для лікування “хвороб” вин;
- розроблено методи виготовлення живих вакцин проти сибірки і сказу;
- закладено основи науки імунології;
- встановлено здатність мікроорганізмів засвоювати і перетворювати різноманітні хімічні сполуки.

Нові напрями у розвитку мікробіології були відкриті видатним біологом Ілля Ілліч Мечниковим. Упродовж багатьох років він працював над вивченням проблеми запалення і несприятливості організму до збудників інфекційних захворювань. Ним була створена фагоцитарна теорія імунітету.

Іншою великою заслугою Мечникова є встановлення антагонізму між молочнокислими та гнильними мікроорганізмами. Саме він вперше висунув концепцію оздоровлення людини та попередження старіння організму включенням у харчовий раціон кисломолочних продуктів.

Видатний вчений Сергій Миколайович Виноградський, вивчаючи сіркобактерії, нітрифікуючі та залізобактерії, відкрив нове біологічне явище – хемосинтез. Він ввів у мікробіологічну практику елективні (специфічні) середовища, придатні тільки для росту бактерій з особливими потребами.

В Інституті Пастера були розроблені бактеріальні фільтри, здатні затримувати бактеріальні клітини. Це дало змогу отримувати фільтрати мікробних культур, звільнені від бактерій. Дмитро Йосипович Івановський за допомогою фільтратів відкрив віруси.

Автор першого вітчизняного підручника з мікробіології Василь Леонідович Омелянський відомий виділенням бактерій, що розкладають целюлозу, дослідженнями ролі мікроорганізмів у кругообігу азоту в природі, вивітрюванні гірських порід, які стали основою геологічної мікробіології.

Уперше застосував променисту енергію для отримання мутантних форм мікроорганізмів Георгій Адамович Надсон, заклавши цим основи радіаційної мікробіології.

Основоположником епідеміології є Данило Кирилович Заболотний.

Одним з перших спостерігав та описав явище бактеріофагії Микола Федорович Гамалія, він розробив теорії інфекції та імунітету, вперше застосував так звані хімічні вакцини.

Завдяки появі нових методів досліджень перша половина 20 ст. була ознаменована відкриттям надзвичайно різноманітних форм, структури та типів метаболізму мікроорганізмів.

У 30-і роки голландський вчений Альберт Ян Клейвер і представники його школи в результаті досліджень виявили, що різноманітність типів життєдіяльності мікроорганізмів поєднується з одноманітністю біохімічних процесів (з біохімічною єдністю живого).

Видатним досягненням стало відкриття антибіотиків, які синтезуються мікроскопічними грибами, актиноміцетами та бактеріями. У 1928-1929 р.р. англійський вчений Александр Флемінг відкрив пеніцилін, у 1940 р. американці Альберт Шатц та Зельман Ваксман відкрили стрептоміцин. На початку 40-х років було розроблено технологію очищення пеніциліну і створено його промислове виробництво.

У 40-і роки розпочато генетичні дослідження на бактеріях. У 60-х роках американський біохімік Маршалл Воррен Ніренберг здійснив основоположні дослідження з розшифрування генетичного коду. У середині 60-х цей код було розшифровано. Він виявився універсальним для всіх живих організмів.

Кінець 60-х ознаменований визначенням амінокислотної послідовності білків, 70-і роки – визначенням нуклеотидної послідовності нуклеїнових кислот, 80-і роки – розробкою методу полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) і бурхливим розвитком нових методів досліджень на основі (ПЛР).

У 70-і роки було відкрито архебактерії.

Особливим досягненням стало створення та бурхливий розвиток нової галузі – біотехнології, тобто промисловості, яка ґрунтується переважно на використанні біологічної діяльності мікроорганізмів.

2. Розповсюдження і роль мікроорганізмів у природі.

Мікроорганізми дуже поширені в природі. Вони є у ґрунті, воді, повітрі, на поверхні рослин і тварин, у кишечнику людей і тварин, на всіх предметах навколишнього середовища. Мікроорганізми складають значну частину живої речовини планети. Так, у 1 мл забрудненої води міститься кілька сотень мільйонів мікробів, у 1 г окультуреного ґрунту – кілька мільярдів. Проте впродовж багатьох століть людство нічого не знало про мікроорганізми.

В біосфері немає такого середовища, в якому не зустрічалися б мікроорганізми. Всюди, де є хоча б якісь джерела енергії, вуглецю і азоту, обов'язково зустрічаються мікроорганізми, що розрізняються за своїми фізіологічними потребами і властивостями. Саме це розмаїття, в основі якого лежить здатність використовувати будь-які, навіть мінімальні можливості для свого існування, історично зумовило всюдишність мікроорганізмів. Активна життєдіяльність міріадів мікроорганізмів, їх гігантська роль в круговороті речовин у природі мають виняткове значення для підтримки (збереження) динамічної рівноваги всієї біосфери, порушення якого призвело б до катастрофічних наслідків.

Відомий фахівець з вивчення мікроорганізмів Бежина в одному зі своїх виступів сказала: "Якщо б яка-небудь катастрофа знищила на нашій планеті людство, поступово зникло б все, що створила людина, але природа продовжувала існувати. Всю планету заповнила би багата флора і фауна. Але якщо б катастрофа торкнулася тільки бактерій, поступово стали в'янути і відмирати рослини, а слідом за ними загинули тварини, включаючи і людину, і Земля перетворилася у безплідну пустелю".

Важлива роль багатьох видів бактерій зумовлена їх участю у процесах гниття та різних типів бродіння, тобто у виконанні санітарної ролі на Землі. Бактерії також мають велике значення у колообігу вуглецю, кисню, водню, азоту, фосфору, сірки, кальцію та інших елементів.

Багато видів бактерій сприяють активній фіксації атмосферного азоту і переводять його в органічну форму, що підвищує родючість ґрунтів. Особливо велике значення мають бактерії, що розкладають целюлозу й пектинові речовини, які є основним джерелом вуглецю для життєдіяльності мікроорганізмів ґрунту.

Сульфатредукуючі бактерії беруть участь в утворенні нафти і сірководню в лікувальних грязях, ґрунтах і морях. Сульфатредукуючі бактерії переводять поживні речовини в ґрунтах рисових плантацій у форму, доступну для коренів цієї культури. Ці бактерії можуть спричиняти корозію металевих підземних і підводних споруд.

Завдяки життєдіяльності бактерій ґрунт звільняється від багатьох шкідливих продуктів і насичується цінними поживними речовинами. Бактерійні препарати успішно використовують для боротьби з багатьма видами комах-шкідників (кукурудзяним метеликом та ін.).

3. Сучасний етап та перспективи розвитку технічної мікробіології.

Мікробіологія як наука поділяється на низку самостійних дисциплін – загальну, сільськогосподарську, медичну, ветеринарну, технічну, геологічну та космічну мікробіологію.

Загальна мікробіологія досліджує загальні закономірності життєдіяльності мікроорганізмів (анатомію, фізіологію, біохімію, генетику, екологію, систематику і еволюцію мікробів).

Сільськогосподарська мікробіологія розробляє методи та препарати для підвищення родючості ґрунту; фітопатогенів та розробляє методи боротьби з ними.

Медична мікробіологія вивчає мікроорганізми, що викликають захворювання у людей, та способи боротьби з ними захворюваннями.

Ветеринарна мікробіологія досліджує збудників захворювань у тварин та птахів і розробляє методи боротьби з ними.

Геологічна мікробіологія вивчає роль і значення мікробів у геологічних процесах.

Морська мікробіологія вивчає мікробів, які живуть в водних басейнах та

їх вплив на водні екологічні системи.

Космічна мікробіологія досліджує вплив на мікроорганізми невагомості та інших чинників.

Технічна мікробіологія розробляє наукові основи використання мікроорганізмів у різних виробничих процесах. Винятково важливе значення мають мікробіологічні процеси у виробництві харчових продуктів.

Один з перших відомих поділів мікроорганізмів на групи базується на відношенні їх до субстрату життєдіяльності. За цим критерієм всі мікроорганізми поділяють на сапрофіти і патогенні. Сапрофіти – розвиваються на мертвих субстратах. Серед них розрізняють корисні – мікрофлора заквасок, молочнокислих продуктів, копчених ковбас, хліба, вина, пива. Але серед сапрофітів є велика кількість збудників псування продуктів, наприклад, гнильні бактерії.

Патогенні – паразити, які живуть на живих субстратах, використовують їх білки, жири, вуглеводи та інші складові частини. Їх поділяють на: зоопатогенні – паразити тварин; фітопатогенні – паразити рослин.

Багато видів бактерій використовують у різних галузях промисловості для добування ацетону, етилового й бутилового спиртів, оцтової кислоти, ферментів, гормонів, вітамінів, антибіотиків, білковітамінівних препаратів тощо.

Завдяки успіхам генної інженерії нині з'явилась можливість широко використовувати кишкову паличку для вироблення інсуліну, інтерферону, а водневі бактерії - для одержання кормового й харчового білків. Без бактерій неможливі процеси дублення шкіри, сушіння листків тютюну, виготовлення шовку, каучуку, оброблення какао, кави, мочіння конопель, льону та інших лубоволокнистих рослин, квашення капусти, очищення води, вилужування металів тощо.

Вивчення генетики бактерій та інших мікроорганізмів має дуже важливе як теоретичне, так і практичне значення для спрямованої селекції високопродуктивних штамів, які останнім часом почали широко застосовуватися в різних галузях народного господарства.

Багатонадійні перспективи для сільського господарства, біології та медицини й інших галузей народного господарства відкриваються у зв'язку з розробкою і вдосконаленням методів генної і клітинної інженерії, за допомогою яких експериментально доведена можливість передачі не тільки природних генів, а й штучно синтезованих, які кодують синтез різноманітних біологічних активних сполук.

Останнім часом інтенсивно вивчаються методи трансплантації генів за допомогою плазмід, які ще часто називають «генною інженерією в природі». Вони відіграють велику роль у передачі генетичного матеріалу між бактеріями, які належать навіть до віддалених філогенетичних груп.

Особливої ваги набувають нині методи одержання енергії та переробки відходів промисловості і сільського господарства з метою одержання цінних

біопродуктів і захисту біосфери від забруднення за допомогою мікроорганізмів. Мікробіологічна наука і мікробіологічна індустрія можуть зробити помітний внесок у розв'язання енергетичних проблем, які пов'язані зі значним зменшенням запасів нафти і вугілля на нашій планеті.

ЛЕКЦІЯ 2

Тема: **Морфологія і систематика мікроорганізмів**

1. Загальні властивості мікроорганізмів.
2. Морфологія бактерій. Основні форми бактерій.
3. Морфологічні особливості інших груп мікроорганізмів.
4. Систематика мікроорганізмів.

1. Загальні властивості мікроорганізмів.

Мікроорганізми – це особи, які мають малу величину та видимі тільки під мікроскопом. Так як мікроорганізми дуже малі, їх розмір вимірюється в мікрометрах: 1 міліметр (мм) = 1000 мікрометрів (мкм) = 1 000 000 нанометрів (нм) = 10 000 000 ангстрем (А). Діаметр більшості бактерій не перевищує тисячної частки міліметра. Ця величина – мікрометр (мкм) – і стала "аршином" мікробіолога. Розміри дрібних ціанобактерій, дріжджів і найпростіших знаходяться в межах 10 мкм. Мікроорганізми відрізняються дуже високою гнучкістю метаболізму. Для бактерій висока здатність до адаптації (приспособування) абсолютно необхідна із-за малих розмірів. У клітині мікрококка є тільки кілька сотень тисяч білкових молекул. Тому непотрібні в даний час ферменти не можуть міститися про запас. Деякі ферменти, необхідні для переробки поживних речовин, синтезуються тільки тоді, коли відповідна речовина з'являється поблизу клітини. Клітинні регуляторні механізми у мікроорганізмів грають істотно велику роль і виявляються більш чітко, ніж у інших живих істот. Клітину мікроорганізму можна порівняти з мікроскопічно малою фабрикою, яка одержує сировину з навколишнього середовища і робить з нього справжні дива. Маючи малу масу, мікроорганізми легко поширюються з повітряними потоками. Вони існують всюди. Тільки середовище визначає, які форми будуть в даному місці активно розмножуватися. Створюючи в пробірці селективні умови, можна з невеликої кількості землі, з харчових продуктів отримати накопичувальні культури, а з них і чисті культури більшості відомих мікроорганізмів. Велике значення мікроорганізмів у природі: вони руйнують труп тварин, залишки коренів, стебел і листя рослин і перетворюють мертву органічну речовину в родючий ґрунтовий гумус, або перегній.

За своїм хімічним складом усі живі істоти схожі. Основними компонентами будь-якої клітини є нуклеїнові кислоти – дезоксирибонуклеїнова та рибонуклеїнові кислоти, білки, ліпіди та вуглеводи. Проте вивчення будови деяких типів клітин дало змогу виявити помітні

відмінності між ними. Ці відмінності настільки принципові, що клітини було поділено на дві групи – прокаріоти та еукаріоти. Причому прокаріоти розглядаються як реліктові форми, що збереглися з найдавніших часів біологічної еволюції, а поява еукаріотичних форм, що виникли із прокаріот – як дуже великий крок в історії життя.

Еукаріоти мають істинне ядро, у якому міститься переважна частина геному еукаріотичної клітини. Геном представлений набором хромосом, як в ході процесу, що називається мітозом, подвоюються і розподіляються між дочірніми клітинами. В еукаріотичній клітині є інші органели, які містять ДНК – мітохондрії і хлоропласти (у рослин), але в них міститься незначна частина клітинного геному, яка представлена кільцевими молекулами ДНК. Рибосоми в еукаріотичній клітині більші, ніж у прокаріот (80S та 70S відповідно). АТФ-синтаза та дихальний ланцюг містяться в мітохондріях. Прокаріоти не мають ядра, відділеного ядерною оболонкою. ДНК у вигляді замкненої кільцевої молекули розміщена у цитоплазмі. Ця бактеріальна хромосома містить всю необхідну для розмноження клітини інформацію. Крім того, в протокаріотичній клітині можуть міститися невеликі позахромосомні кільцеві молекули ДНК – плазміді, але без них клітина може обійтися. Прокаріотична клітина не містить органел. Рибосоми менші – 70S. АТФ-синтаза та дихальний ланцюг розміщені в цитоплазматичній мембрані. Щодо морфології прокаріоти є відносно мало диференційовані: це сферичні форми, прямі чи вигнуті палички. Але з такою зовнішньою одноманітністю різко контрастує надзвичайна різноманітність і пластичність метаболічних процесів. У той час як рослинам і тваринам необхідний молекулярний кисень, багато які групи прокаріот можуть існувати без доступу повітря (в анаеробних умовах), одержуючи необхідну для росту енергію в результаті бродіння або анаеробного дихання. Інші групи прокаріот можуть використовувати енергію світла і синтезують потрібні їм речовини з органічних сполук або з вуглекислоти (двоокису вуглецю).

Мікроорганізми – це одноклітинні організми – бактерії, актиноміцети, дріжджі, водорості, найпростіші (Protozoa); багатоклітинні – міцеліальні (нитчасті) гриби; неклітинні, або з неригідною клітинною оболонкою – мікоплазми, віруси.

2. Морфологія бактерій. Основні форми бактерій.

Бактерії (від лат. *bacteria* — паличка) — це одноклітинні організми, що мають ригідну клітинну стінку, не містять хлорофілу і розмножуються прямим поділом. Більшість із них мають джгутики і здатні утворювати спори.

Переважаюча більшість відомих бактерій мають форму сфери (кулясті), або циліндру (паличкоподібні), або спіралі (рис.1).

Кулясті бактерії бувають поодинокими (коки), з'єднаними по дві клітини (диплококи), чотири клітини (тетракоки), в довгі ланцюжки (стрептококи), у пакети (сарцини), у вигляді скупчень неправильної форми

(стафілококи).

Паличкоподібні бактерії розрізняються за розміром відношення довжини клітини до її поперечного розміру. У коротких паличок це відношення таке мале, що їх важко відрізнити від коків. Вони підрозділяються на бактерії, що не утворюють спор і бацили – спороутворювальні бактерії. Бактерії спіральної форми характеризуються різною кількістю витків: спірили мають від одного до декількох витків, вібріони виглядають як вигнуті палички, їх можна розглядати як повний виток.

З розвитком мікроскопічної техніки та удосконаленням методів підготовки препаратів відкриті інші екзотичні форми бактерій. Деякі бактерії мають вигляд зімкнутого або розімкнутого кільця, у деяких видно клітинні вирости (простеки), кількість яких коливається від 1 до 8 і більше, виявлені бактерії незвичайної форми, схожі на кристали, і т. п.

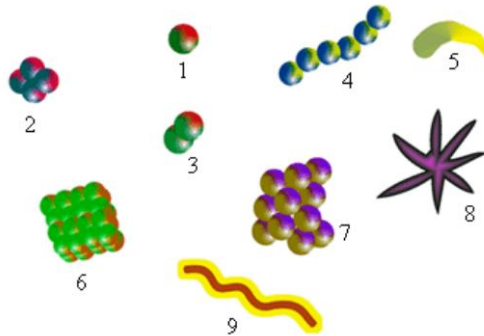


Рис. 1. Форми бактеріальних клітин: 1 – монокок, 2 – тетракок, 3 – диплокок, 4 – стрептокок, 5 – вібріон, 6 – сарцина, 7 – стафілокок, 8 – бактерія з виростами-простеками, 9 – спірохета.

3. Морфологічні особливості інших груп мікроорганізмів.

Віруси. Неклітинна форма існування життя. Існують у вигляді молекул ДНК або РНК, що вкриті білковою оболонкою – капсоїдом. Віруси були відкриті відомим російським вченим Д.І. Івановським в 1892 році під час вивчення мозаїчної хвороби листків тютюну. Він встановив, що цю хворобу викликають надзвичайно малі мікроби – фільтруючі віруси, які легко проходять через бактерійні фільтри. Віруси мають надзвичайно малі розміри. та надзвичайну стійкість до чинників зовнішнього середовища. На льоду вони можуть зберігати свою активність близько двох років, при висушуванні не гинуть, а навпаки краще переносять несприятливі умови середовища, живуть і розмножуються.

Рикетсії – це група мікроорганізмів, що займають проміжне положення між бактеріями й вірусами. Рикетсії – паличкоподібні організми завширшки 0,2 – 0,3 мкм і завдовжки 0,3 – 1,0 мкм. Вони не утворюють спор і капсул, нерухомі, грамнегативні, мають клітинну стінку, цитоплазматичну мембрану,

рибосоми та нуклеоїд, не оточені оболонкою (прокаріоти), розмножуються прямим поділом. Рикетсії на відміну від бактерій не ростуть на звичайних живильних середовищах, але репродукуються в курячих ембріонах, що розвиваються, а також клітинах комах і кліщів. Рикетсії є внутрішньоклітинними паразитами, що спричиняють низку захворювань. Збудники хвороби переносяться під час укусу кліщів, вошей, у клітинах яких вони розмножуються.

Мікоплазми. Мікоплазми – це бактерії, що не мають клітинної стінки. Вони оточені тришаровою цитоплазматичною мембраною, мають цитоплазму, рибосоми і нуклеоїд. Для їхнього росту необхідні холестерин, нативні білки і фактори росту, що містяться в дріжджах. Мікоплазми спричиняють низку захворювань людини й тварин (пневмонія, запалення суглобів, запалення статевих органів, молочної залози).

Бактеріофаги – віруси, що паразитують у бактеріях, найчастіше трапляються скрізь, де є мікроорганізми, – ґрунті, водоймах, виділеннях тварин, харчових продуктах і складаються з голівки та видовженого відростка. Розвиток бактеріофага в клітині бактерії відбувається аналогічно розвитку вірусу. Найчутливішими до бактеріофагів є бактерії, що перебувають на стадії поділу. Вперше явище, коли видимі в мікроскоп бактерії піддавалися лізису, спостерігав у 1898 році російський мікробіолог Н.Ф. Гамалєя. Віруси, які паразитують на бактеріях дістали назву – бактеріофагів, на актиноміцетах – актинофагів, на грибах – мікофагів, на ціанобактеріях – ціанофагів.

Актиноміцети (променеві грибки; лат. actis — промінь, myses — гриб) – це одноклітинні прокаріотні організми, що мають форму довгих розгалужених ниток, які нагадують міцелій грибів. Будова міцелію в різних представників актиноміцетів однотипна. За будовою та біохімічними властивостями актиноміцети аналогічні бактеріям, а за характером розмноження, здатністю утворювати гіфи і міцелій – грибам.

Мікроорганізми, які займають проміжне місце між бактеріями і грибами. Більшість актиноміцетів синтезують пігменти червоного, зеленого, рожевого і чорного кольорів. Актиноміцети відіграють надзвичайно важливу роль в перетворенні речовин в природі. Такі види, як актиноміцет стрептоміцині (*Actinomyces streptomycin*), використовують для отримання антибіотика стрептоміцину, актиноміцет ауреофацієнс (*Actinomyces aureofaciens*) — ауреоміцину. Актиноміцети широко розповсюджені в природі, більшість з них – ґрунтові мікроорганізми (сапрофіти). Патогенні форми представлено обмеженою кількістю анаеробних видів (*Streptomyces bovis*, *S. israelii*) – збудників актиномікозів людини та тварин. Найчастіше ці захворювання пов'язані з пошкодженням зубів, травмуванням слизової оболонки ротової порожнини. Деякі види актиноміцетів викликають хвороби рослин, наприклад паршу картоплі та цукрових буряків.

Гриби. Це еукаріоти, широко розповсюджена в природі група безхлорофільних організмів-гетеротрофів, що характеризуються широким

діапазоном біохімічної активності. В останні роки грибам присвоєно статус живих істот планети. За кількістю видів вони займають третє місце після рослин та тварин. Описано близько 100 тис. видів грибів. До них відносяться мікро- і макроскопічні форми, серед яких зустрічаються одноклітинні, нитчасті та міцеліальні форми. Мікроскопічні міцеліальні гриби називаються також мікроміцетами, пліснявими грибами. Вегетативне тіло гриба (талом) складається з ниток завтовшки 5 мкм – гіфів. Сукупність гіфів грибного талому називається міцелієм. Міцелій буває субстратним, коли гіфи врастають у поживне середовище, повітряним – гіфи піднімаються на субстратом. Гіфи можуть не мати поперечних перегородок (утворюють несептований міцелій) і можуть бути розділені такими перегородками (септами) на клітини (утворюють септований міцелій). Проте у цьому разі цитоплазма однієї клітини сполучається з цитоплазмою сусідньої клітини через пору, яка міститься у центрі перегородки.

Дріжджі – належать до класу сумчастих грибів – аскоміцетів. Це одноклітинні безхлорофільні гриби різноманітної форми: яйцеподібна, еліптична, циліндрична, лимоноподібна, куляста. За розмірами клітини дріжджів набагато крупніші за клітини бактерій, нерухомі. Дріжджі широко розповсюджені в ґрунті особливо в ґрунтах садів і виноградників, а також на плодах і листках багатьох видів рослин. Вони легко розмножуються в субстратах, що містять розчинні джерела вуглеводів (цукри, спирти, органічні кислоти). Висока метаболічна активність дріжджів обумовила широке їх практичне використання в харчовій промисловості та при виготовленні заквасок у хлібопеченні, при одержанні кисломолочних продуктів, вин, сидрів, спирту (*Saccharomyces cerevisiae*). За допомогою дріжджів одержують ліпіди, білки, поліцукри, органічні кислоти, багатоатомні спирти, вітаміни та ін.

Плісневі гриби – безхлорофільні, багатоклітинні організми. На поверхні субстратів вони утворюють грибницю, яка складається з великої кількості відростків – гіф. Плісені відіграють важливу роль у перетворенні органічних речовин в природі. В промисловості їх використовують для одержання ферментних препаратів, органічних кислот, антибіотиків та ін. Однак, багато плісень спричиняють псування харчових продуктів і товарів, а також зумовлюють хвороби рослин, тварин і людини.

Мікроскопічні водорості. За кількістю клітин водорості розділяють на одноклітинні і багатоклітинні. Клітина водоростей має чітко виражене ядро і містить хлорофіл, тому більшість водоростей здатні синтезувати вуглеводи. Ґрунтові водорості зустрічаються всюди, головним чином в ґрунтах, які багаті на вологу та органічні речовини. Водорості відіграють важливу роль в кругообігу речовин в природі, оскільки вони синтезують і накопичують органічну речовину. Найбільш поширені в природі зелені, жовто-зелені, синьо-зелені і діатомові водорості. Класифікація водоростей ґрунтується на таких ознаках: хімічний склад клітинної оболонки, характер фотосинтетичних пігментів, природа органічних речовин, які відкладаються про запас у клітині,

будова і розміщення джгутиків у рухомих клітин тощо. На основі цих ознак водорості поділяють на кілька великих груп (відділів). Для мікробіології найбільший інтерес становлять одноклітинні рухомі форми, а це майже всі евглени, більша частина, діатомових, окремі класи жовтозелених і зелених водоростей. Детально вивченням водоростей займається наука альгологія.

Найпростіші (Protozoa). До найпростіших відносяться мікроскопічні тваринні організми. Розміри їх клітини коливаються від 15 до 20 мкм. Форма клітини може бути кулястою, овальною, сплюснутою і розгалуженою. Число найпростіших в ґрунтах може сягати 1 мільйона клітин в 1 г абсолютно сухого ґрунту. Більшість найпростіших живляться бактеріями. Так, наприклад, амеби, крім різноманітних бактерій живляться клітинами азотобактера, чим підтримують його чисельність в ґрунті на певному рівні. Чимало видів найпростіших є паразитами тварин і рослин; переважна більшість мешканців ґрунту живляться бактеріями. За несприятливих умов вони можуть утворювати цисти. Найпростіші стимулюють ріст і розвиток вищих рослин, оскільки виділяють в ризосферу продукти обміну, які містять азотовмісні сполуки. Протозоа відносять до трьох класів: джгутиконосії (типовий представник – евглена зелена) – організми, які займають проміжне місце між рослинами і тваринами; саркодові (представник амеба) – організми, які не мають постійної форми тіла; інфузорії (представник інфузорія туфелька) – організми які мають постійну форму тіла завдяки щільній оболонці рівномірно вкритій війками.

4. Систематика мікроорганізмів.

Мікроби – це найбільша за кількістю та дуже різноманітна за рівнем організації частина організмів, які населяють біосферу Землі. Об'єднують їх тільки малі розміри, тому систематизувати їх дуже складно. Збудники захворювань є серед неклітинних (віруси та пріони) і клітинних організмів. Останні поділяють на 2 великі групи: прокаріоти (доядерні) та еукаріоти (ядерні). Патогенні мікроорганізми зустрічаються серед бактерій (прокаріоти), грибів і найпростіших. Перші спроби систематизувати мікроорганізми належать датському вченому О. Мюллеру, який розділив відомі на той час бактерії на 15 видів і виділив два роди – *Monas* і *Vibrio*. Однак перші класифікації бактерій були побудовані на морфологічних ознаках: мікроорганізми описувались і заносились до каталогів (принцип каталогізації). Здійснити систематику мікроорганізмів стало можливим лише після того як С.М. Виноградський і М. Бейеринк обґрунтували необхідність використовувати для класифікації бактерій поряд із морфологічними ознаками – фізіологічні. В останній час у зв'язку з розвитком молекулярної мікробіології для систематики мікроорганізмів використовують спадкові ознаки (дані про генотип). Це дає можливість якісно доповнити їх характеристики.

Систематика (таксономія) – це наука, яка займається питанням класифікації та ідентифікації мікроорганізмів. Завданням класифікації є об'єднання мікроорганізмів із спільними ознаками в певні групи (таксони).

Номенклатура – система найменувань, які використовуються для назви мікроорганізмів. Назву мікроорганізмам присвоюють у відповідності з правилами міжнародного кодексу номенклатури бактерій, який введений в дію з 1 січня 1980 року. Згідно з новим кодексом номенклатури бактерій запроваджено такі міжнародні класифікаційні категорії: відділ, клас, порядок, родина, рід, вид.

Вид – це основна таксономічна одиниця. В мікробіології, для позначення виду користуються бінарною (подвійною) номенклатурою, яка запропонована К. Ліннеєм. Перше слово означає рід. Воно характеризує морфологічні, фізіологічні ознаки бактерій або прізвисько вченого, який відкрив бактерію. Наприклад, назва *Escherichia coli* вказує, що мікроб відкрив Ешеріх. Друге слово означає видову назву мікроорганізма, яка утворюється залежно від джерела його відкриття, процесу або хвороби, які він викликає та ін. В даному випадку *coli* означає, що збудник виділений із кишківника.

В мікробіології існує два різних підходи до систематики, які обумовлюють два види класифікації. В основі першого лежить ідея створення природної (філогенетичної) класифікації, яка об'єктивно відображає зв'язок між окремими групами бактерій, їх історію та еволюційний розвиток. Інший підхід до систематики переслідує практичні цілі і використовується для ідентифікації виду. Це штучна класифікація бактерій, яка є традиційною. До таких класифікацій належить класифікація мікроорганізмів американського вченого-мікробіолога Д. Х. Бергі (1860 - 1937). Вона є загальновизнаною та найбільш поширеною. Перше видання визначника бактерій Бергі вийшло в світ у 1923 р. Нове, дев'яте, видання систематики бактерій «Bergey's Manual of Systematic Bacteriology» (в 4-х томах), у підготовці якого брало участь Американське товариство мікробіологів спільно з найавторитетнішими вченими із 14 країн світу, було видано у 1984-1989 рр. У ньому більш детально і повно подано відомості про мікроорганізми, їх нумеричну таксономію, методи генетичного, серологічного і хемотаксономічного досліджень більшості різних видів бактерій. Викладено основи номенклатури бактерій та принципи ідентифікації їх, наведено екологічну характеристику прокаріотів тощо. Визначник бактерій Бергі здобув міжнародне визнання. У ньому всі виявлені бактерії віднесено до царства Procarvotae, яке поділено на 33 групи. У цій фундаментальній праці запропонована також схема поділу царства Procarvotae на інші таксони — відділи, класи тощо. Поділ на відділи ґрунтується з огляду на наявність і будову клітинної стінки прокаріотних організмів. Коротка характеристика поділу царства Procarvotae на відділи і класи за визначником бактерій Д. Бергі має такий вигляд. Згідно з визначником, виданим у 1993 р., бактерії поділяють за будовою клітинної стінки та забарвленням за Грамом на такі відділи: Gracilicutes – тонкошкірі (грамнегативні); Firmicutes – товстошкірі (грампозитивні), Tenericutes – які не мають клітинної стінки (мікоплазми), Mendisicutes – архебактерії (вони непатогенні).

Відділ I. Gracilicutes (грацилікути). Сюди належать грамнегативні прокаріоти різних форм. Вони бувають рухомими й нерухомими, ендоспор не утворюють, розмножуються шляхом поділу, а деякі – брунькуванням.

Відділ II. Firmicutes (фірмікутні грампозитивні прокаріоти). В цьому відділі об'єднано мікроби, які мають кулясту, паличкоподібну, нитчасту, розгалужену та інші форми. Серед них є рухомі і нерухомі, аеробні, анаеробні, спороносні і неспороносні організми. Переважна більшість з них розмножуються бінарним поділом, а деякі – спорами.

Відділ III. Tenericutes (тенерікути). До цього відділу належать грамнегативні прокаріоти, які не мають клітинної оболонки і не синтезують пептидоглікану. Клітини їх оточені цитоплазматичною мембраною, а тому за формою вони є дуже плеоморфними. Тенерікути розмножуються бінарним поділом, брунькуванням та фрагментацією. Серед них є сапрофіти, паразити, патогенні організми – збудники захворювань рослин, тварин і людини.

Відділ IV. Mendosicutes (мендозикутні прокаріоти). Тут об'єднано різної форми прокаріотів, які за походженням вважаються старшими за представників I і II відділів. У більшості мендозикутів в клітинних стінках немає пептидоглікану. Вона може бути побудована тільки з білка або гетерополісахаридів. Серед них переважають облигатні анаероби, вони не утворюють ендоспор, забарвлюються за Грамом негативно і позитивно. Ці організми характеризуються різноманітністю метаболізму і здатністю жити в різних екстремальних умовах.

У кінці 90-х років XX століття було запропоновано ще одну класифікацію, за якою живі організми поділяються на три надцарства: акаріоти (без'ядерні); прокаріоти (доядерні); еукаріоти (ядерні). До надцарства акаріотів належить царство вірусів, до надцарства прокаріотів – царства архебактерій, ціанобактерій та еубактерій, до надцарства еукаріотів – царства рослин, тварин і грибів.

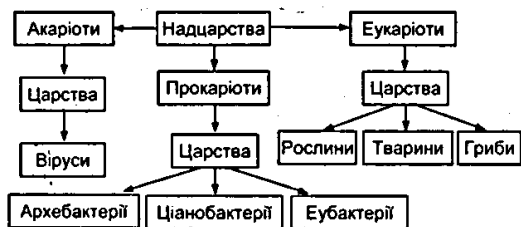


Рисунок 1. Класифікація живих організмів

ЛЕКЦІЯ 3

Тема 3. Анатомічна будова мікроорганізмів

1. Загальні уявлення про анатомічну будову мікроорганізмів та внутрішня структура бактеріальної клітини.
2. Зовнішні утворення бактеріальної клітини та рух бактерій.
3. Анатомічна структура вірусів та рикетсій.
4. Анатомічна структура мікроскопічних грибів.

1. Загальні уявлення про анатомічну будову мікроорганізмів та внутрішня структура бактеріальної клітини.

Незважаючи на простий зовнішній вигляд, бактеріальна клітина є складним живим організмом, будова якої за багатьма ознаками нагадує будову клітин рослинного чи тваринного походження. Однак анатомічна будова бактерій довгий час залишалась маловивченою. Це пояснюється досить малими розмірами клітини та мінливістю бактерій залежно від умов живлення і середовища. Детальне вивчення анатомічної будови бактерій стало реальним після винайдення електронної мікроскопії, яка дала можливість ретельно дослідити поверхневу і внутрішню структуру клітини бактерій.

Бактеріальна клітина оточена щільною оболонкою – клітинною стінкою. У багатьох бактерій зовні від клітинної стінки розміщені капсула або слизові шари, пілі (ворсинки) та джгутики. Всередину від клітинної стінки розміщена цитоплазматична мембрана, яка оточує цитоплазму. В цитоплазмі містяться бактеріальне ядро, рибосоми, запасні речовини та інші бактеріальні структури. У протоплазмі деяких бактерій утворюються форми спокою — спори (ендоспори).

Внутрішня структура бактеріальної клітини представлена цитоплазмою, в якій знаходяться: нуклеоїд, рибосоми та інші мембранні утворення.

До зовнішніх утворень бактеріальної клітини відносять оболонку, капсулу, джгутики і фimbрії.

Внутрішня структура бактеріальної клітини

Бактеріальна клітина має дуже складну гетерогенну і разом з тим строго впорядковану структуру. У загальних рисах будова бактеріальної клітини не відрізняється від будови клітини вищих організмів. Клітина як універсальна одиниця життя виявилася настільки досконалою формою організації живої матерії, що в процесі еволюції від одноклітинних до вищих багатоклітинних організмів вона зберегла всі основні риси своєї будови, а, отже, і функції (рис.1).

Форма бактеріальної клітини визначається жорсткою (ригідною) клітинною стінкою, яка надає клітині певну, спадково закріплену зовнішню форму. На клітинній стінці бактерій перебувають так звані поверхневі структури: капсула, джгутики, статеві ворсинки, вії. Під клітинною стінкою розташована цитоплазматична мембрана (ЦПМ), яка відмежовує цитоплазму

клітини.

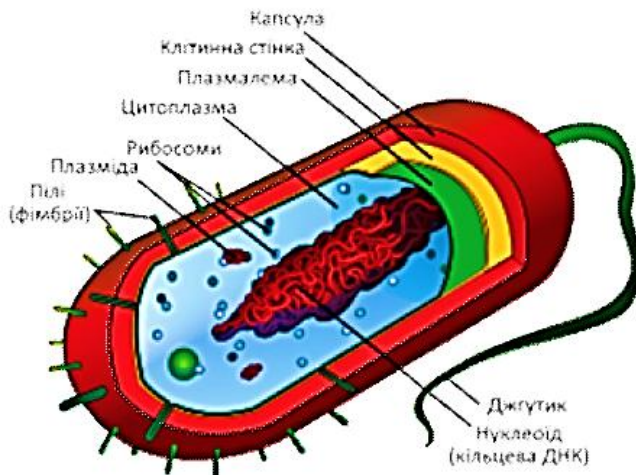


Рис.1 - Клітинна структура прокаріотів

Цитоплазма. Цитоплазма бактерій – це внутрішній вміст клітини. Вона є середовищем, яке зв'язує всі внутрішньоклітинні структури в єдину систему, являє собою безбарвну, гомогенну колоїдну систему, яка складається із води, білків, жирів, вуглеводів і різних мінеральних сполук. Для цитоплазми характерний різко виражений поверхневий натяг. Шар цитоплазми, який знаходиться безпосередньо під оболонкою клітини є більш щільним і утворює цитоплазматичну мембрану. Внутрішню порожнину клітини заповнює цитозоль – напіврідка колоїдна маса, що складається на 70 – 85 % з води, РНК, білків (включаючи ферменти), продуктів і субстратів метаболічних процесів. У цитоплазмі знаходяться структури клітини (рибосоми, нуклеоїд та ін.), цитоплазматичні мембранні утворення (газові вакуолі, мезосоми, хроматофори, тилакоїди), включення, оточені білковою мембраною (хлоросоми, фікобілісоми, мегнетосоми та ін.), а також структури, позбавлені мембрани, які розглядають як запасні речовини. Також в ній міститься значна кількість ферментативних систем, які виконують надзвичайно важливі функції: регулюють надходження і виділення з клітини різних речовин, здійснюють синтез клітинної оболонки та інших компонентів бактеріальної клітини.

Цитоплазматична мембрана є обов'язковим структурним елементом клітини. Порушення її цілісності призводить до втрати життєздатності клітини, її загибелі. Цитоплазма разом із органоїдами та цитоплазматичною мембраною становить протопласт. В протопласті проходять всі основні життєво важливі

процеси клітини: дихання, синтез білків, нуклеїнових кислот, спорогенез.

Нуклеоїд – клітина бактерій не має диференційованого ядра, утворення, що зберігає і передає спадкову інформацію, знаходиться безпосередньо в цитоплазмі, тому ядерний апарат бактеріальної клітини дістав назву нуклеоїда. Це подвійна нитка ДНК з молекулярною масою $(2-3) \times 10^9$, не розділена між собою і цитоплазмою будь-якою оболонкою, має вигляд згорнутої в кільце нитки довжиною 1,1 – 1,4 мм, яку ще називають бактеріальною хромосоною. У нуклеоїді закладена генетична інформація, відповідальна за передавання спадкових ознак виду мікроорганізму.

Рибосоми кріпляться до цитоплазматичної мембрани. Це мембранні часточки розміром 16–18 нм, які складаються із РНК (60 – 65%) і білка (35 – 40%). У них міститься до 85% усієї бактеріальної РНК. У рибосомах відбувається синтез білків. Клітини в стані інтенсивного росту містять приблизно 15 000 рибосом. Рибосоми можуть об'єднуватись в полісоми – структури, які складаються з рибосом, молекул інформаційної і транспортної РНК. Загальна маса їх може становити 1/4 усієї маси клітини. Кількість рибосом визначається швидкістю росту клітин. Основна функція рибосом – синтез білка.

Мезосоми – особливі органели, що утворюються цитоплазматичною мембраною в цитоплазмі. У мезосомах, які відіграють важливу роль під час поділу клітини, відбуваються окисно-відновні процеси, вони виконують видільну функцію і забезпечують синтез екзоферментів.

Хроматофори – мембранні утворення, які становлять від 40 до 50 % маси клітини. В них містяться фотосинтетичні пігменти – бактеріохлорофіл і каротиноїди.

Плазмиди – дрібні кільцеподібні структури ДНК, регулюють синтез окремих біологічно активних речовин (токсинів, ферментів, антибіотикоподібних речовин — бактеріоцинів та ін.). Ці структури мають властивості генів (генетичні структури).

Карбоксисоми – виявлені в клітинах ціано- і сіркобактерій. Вони містять важливий фермент фіксації CO_2 в циклі Кальвіна – рибульозу фосфаткарбоксилазу. Функції карбоксисом повністю не з'ясовані.

Аеросоми – характерні для бактерій, що живуть у водоймах (пурпурні і зелені сіркобактерії). За формою вони нагадують вакуолі, заповнені пухирцями газів. Аеросоми виконують функцію регуляції плавучості бактерій і дають можливість бактеріям, які не мають джгутиків, здійснювати вертикальні рухи у воді та капілярах ґрунту.

У цитоплазмі багатьох видів бактерій містяться гранули волютину, ліпопротеїди, глікоген, пігменти, сірка, кальцій та інші речовини, що є запасним поживним матеріалом, який використовується бактеріями за несприятливих умов існування.

Спори та спороутворення – це внутрішньоклітинні утворення круглої або овальної форми. Спора може становити в середньому 1/10 частину об'єму

клітини, але на неї приходить більша частина маси сухої речовини материнської клітини (вегетативна клітина).

Спори починають утворюватися при потраплянні бактерій в несприятливі умови зовнішнього середовища (підвищена температура, дефіцит вологи або поживних речовин, зміна рівня рН, накопичення шкідливих продуктів обміну та ін.). Тому, спори є пристосуванням організму бактерій до виживання. Спороутворення (спорогенез) може тривати від 4–8 до 72 годин. Хімічний склад та будова спори обумовлюють її підвищену стійкість до несприятливих умов зовнішнього середовища. Наприклад, неспороні форми бактерій гинуть при 80°C протягом 10 хвилин (пастеризація), а спороносні – гинуть в автоклаві під дією насиченої пари при температурі (115 – 125) °C, а також під впливом температури 150 – 170° у сухо-жаровій печі Пастера. Спори витримують кип'ятіння протягом кількох годин і вплив високих концентрацій дезінфікуючих речовин. Так, спора сінної палички може витримувати кип'ятіння впродовж 2 годин, у той час як вегетативна форма цієї бактерії гине при температурі 75°C уже через кілька хвилин.

В міру утворення спори, вегетативна клітина поступово відмирає. Але при потраплянні в сприятливі умови спори проростають і перетворюються знову у вегетативні форми клітини. Спори при цьому набрякають, збільшуються їх розміри, підвищується активність ферментів, під впливом яких розчиняється оболонка і настає проростання спори.

Розрізняють полярне, екваторіальне і косе проростання спор. При полярному проростанні «проросток» виходить назовні через один із кінців спори, при екваторіальному – в середній частині спори. Косе проростання зустрічається досить рідко. Тривалість проростання спор – від 2 до 5 год.

Слід зауважити, що кожна бактеріальна клітина здатна утворювати тільки одну спору, з однієї спори утворюється тільки одна вегетативна клітина. Отже, процес спороутворення не є способом розмноження, а виконує тільки захисні функції клітини.

Типи спороутворення:

1. *бацилярне* – спора локалізується в клітині центрально, ексцентралью чи термінально, при цьому клітина не змінює своєї форми. Прикладом є збудник сибірської виразки (*Bacillus anthracis*);

2. *кlostридіальне* – при формуванні спори клітина змінює свою форму, набуваючи вигляду веретена або човника. Такі клітини називаються *кlostридіями*. Прикладом є збудник ботулізму (*Clostridium botulinum*);

3. *плектридіальне* – спора локалізується термінально, у місці її розміщення клітина розширюється і набуває форми ракетки. Прикладом є целюлозоруйнівні бактерії. *Кlostридіальний* і *плектридіальний* типи розміщення спор властиві, в основному, видам роду *Clostridium* і нерідко зустрічаються одночасно в культурі одного виду.

2. Зовнішні утворення бактеріальної клітини та рух бактерій.

Клітинна стінка. Клітинна стінка належить до обов'язкових структур

бактеріальної клітини. Завдяки їй бактерії мають певну форму. Винятком є мікоплазми та L-форми бактерій, які позбавлені цієї структури. Клітинна стінка захищає внутрішній вміст клітини від механічних і осмотичних впливів зовнішнього середовища, відіграє важливу роль у регуляції росту, поділу клітини та розподілі генетичного матеріалу, визначає здатність клітини фарбуватися за Грамом. Товщина клітинної стінки коливається від 10 до 80 нм, а її маса складає близько 20 % маси сухої речовини клітини бактерії.

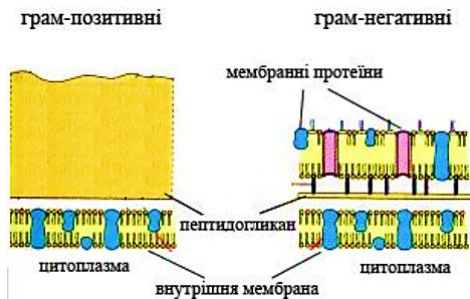


Рис.2 - Структура клітинної стінки грам позитивних і грам негативних бактерій

Головним структурним компонентом оболонки більшості бактерій є муреїн (пептидоглікан). Вважають, що від будови клітинної оболонки залежить забарвлення мікроорганізмів за Грамом. Так, у грампозитивних бактерій оболонка складається з багатьох шарів муреїну, в який вплетені такі супутні компоненти, як білки, поліцукри та органічні кислоти. Крім пептидоглікана в клітинній стінці грампозитивних прокаріот містяться унікальні хімічні з'єднання – тейхоеві кислоти. У грам негативних бактерій муреїн одношаровий. Вміст муреїну в клітинних оболонках коливається від 50 до 90 % у грампозитивних і від 1 до 10% – у грамнегативних.

Капсула. У більшості бактерій оболонка клітини зовні покрита слизом. Шар слизу може мати різну товщину і конфігурацію. Якщо товщина слизу досить велика і він має певну форму, то його називають капсулою. Розрізняють мікро-, макрокапсулу та слизовий шар.

Мікрокапсулу виявляють за допомогою електронної мікроскопії. Вона представлена мукополісахаридними фібрилами. Роль її остаточно не з'ясовано.

Макрокапсула - це стовщений слизовий шар, його мають не всі мікроорганізми. В утворенні капсули приймає участь цитоплазматична мембрана. Капсули містять до 98 % води, тому вони виконують функцію захисту клітини від висихання, механічних пошкоджень і допомагають переносити бактеріям несприятливі умови зовнішнього середовища.

Мікроорганізми, які утворюють велику кількість слизу можуть бути шкідливими для виробництва. Так, зокрема, на цукрових заводах, вони спричиняють ослизнення цукрового сиропу (*Leuconostocmesenteriodes*), на

пивоварних – «тягучість» пива.

Інколи бактерії синтезують настільки багато слизу, що це призводить до злипання їх у групи. Такі слизисті групи називають зооглеями. Прикладом може бути *Streptococcus mutans*, який прикріплюючись клейкими речовинами капсули до поверхні зубів викликає розвиток карієсу.

У деяких видів мікроорганізмів (залізобактерії, сіркобактерії) відбувається затвердіння зовнішніх шарів оболонки клітини, що призводить до утворення чохлів. У залізобактерій в чохлах відкладається гідроокис заліза, який надає їм особливої міцності.

Цисти. Деякі мікроорганізми в несприятливих умовах середовища утворюють клітини з міцними, щільними оболонками, які не є спорами. Цисти стійкі до висушування, механічних подразнень і менш стійкі до температури. Цисти утворюють бактерії роду *Azotobacter* і *Bdellovibrio*.

Війки, або пілі – це ниткоподібні короткі білкові трубочки на поверхні клітин. За допомогою їх бактерії прикріплюються до об'єкта (найчастіше до слизових оболонок).

Крім звичайних фімбрій на поверхні клітини можуть знаходитись *статеві фімбрії (пілі)*. Вони мають всередині канал, через який при статевому контакті (кон'югації) передається генетичний матеріал від однієї клітини до іншої.

Джгутики – тяжі білкової природи, за допомогою яких бактерії рухаються. Товщина джгутиків коливається від 0,02 до 0,06 мкм, довжина – від 6 до 9 мкм. Зважаючи на такі малі розміри, їх можна побачити тільки за допомогою електронного мікроскопа. Джгутики кріпляться до клітини за допомогою двох дисків: зовнішній диск міститься в клітинній стінці, внутрішній – у цитоплазматичній мембрані. Джгутики складаються з білкової речовини флагеліна, який міститься тільки у складі джгутиків.

В залежності від розташування джгутиків рухливі бактерії поділяють на наступні групи:

а) *монотрихи* – мають один джгутик. Прикладом може бути холерний вібріон;

б) *лофотрихи* – мають пучок джгутиків на одному із кінців клітини;

в) *амфітрихи* – мають один або пучок джгутиків на обох кінцях. Прикладом є спірили;

г) *перитрихи* – мають хаотично розташовані джгутики по всій поверхні клітини. Прикладом є *Escherichia coli* та *Salmonella*.

Кількість і розміщення джгутиків визначають характер і швидкість рухів бактерій. За несприятливих умов бактерії можуть втрачати джгутики, а відповідно, і властиву їм рухливість.

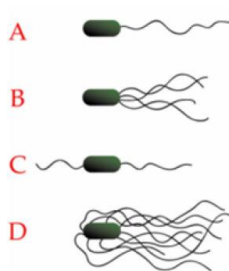


Рис.3 - Типи розташування джгутиків:

A – монотрихи, B – лофотрихи, C – амфітрихи, D - перитрихи

Рух бактерій. Рухомі бактерії поділяють на ковзаючі та плаваючі. Ковзання спостерігається у міксо- і сіркобактерій, які не мають джгутиків. Цей рух ще називають реактивним. Бактерії, у яких джгутики знаходяться на одному кінці клітини (лофотрихи, монотрихи) рухаються по прямій лінії, перитрихи – рухаються перевертанням клітини в різні сторони. Швидкість руху бактерій залежить від кількості та характеру розміщення джгутиків, від віку клітини і факторів зовнішнього середовища.

3. Анатомічна структура вірусів та рикетсій.

Віруси живуть безпосередньо в клітинах живих організмів. Позаклітинна форма існування вірусів – віріон. Віріон складається із нуклеїнової кислоти і білка. Нуклеїнова кислота, як правило, представлена однією молекулою ДНК або РНК.

Навколо молекули ДНК (РНК) розміщується білкова оболонка (капсид). Капсид складається з великої кількості субодиниць – капсомерів, які в свою чергу представлені однією або двома молекулами білка.

Фаги – складаються із відростка і головки. Головка фага вкрита оболонкою із капсомерів. Всередині головки знаходяться одна або дві нитки ДНК.

Відросток являє собою білковий стрижень, який зверху вкритий чохлам із капсомерів, здатних до скорочень. Відросток закінчується базальною пластинкою із 5-6 виростами. Від пластинки також відходять тонкі нитки – органи адсорбції. Через відросток ДНК із головки фага переходить в клітину ураженого організму.

Рикетсії – мікроорганізми, які за патогенністю не поступаються вірусам і фагам, однак їх анатомічна будова є більш досконалою. Нуклеоїд рикетсій має ДНК і РНК. Крім того, на відміну від вірусів і фагів, рикетсії мають клітинну оболонку, яка надає їм певної форми.

4. Анатомічна структура мікроскопічних грибів

Гриби включають як багатоклітинні (плісняві), так і одноклітинні організми (дріжджі).

Особливістю анатомічної будови пліснявих грибів є наявність в складі

клітинної оболонки хітину або близьких йому речовин. Внутрішня будова клітини представлена цитоплазмою, яка має зернисту структуру. Вважають, що це пов'язано з наявністю великої кількості рибосом, що містять РНК і є місцем синтезу білка. В цитоплазмі пліснявих грибів є також мітохондрії, лізосоми, апарат Гольджі, та включення жирів і волутину. На відміну від бактерій, клітини грибів мають чітко виражене ядро і ядерце.

Клітина більшості грибів – це частина гіфи. У аскоміцетів і дейтероміцетів міцелій ділиться поперечними перетинками на окремі камери. Клітинна перетинка має центральну пору, через яку з однієї клітини до іншої можуть мігрувати поживні речовини, віруси і навіть ядра. Клітина грибів складається з добре вираженої клітинної стінки товщиною близько 0,2 мкм і цитоплазми з мембранними структурами.

Клітинна стінка. Клітинна стінка визначає стійку форму гіфи. Вона являє собою щільну пружну полімерну структуру, що виконує опорно-механічну функцію, захищає клітини від впливу зовнішніх факторів, має вибірккову проникність для речовин різної хімічної природи. Клітинна стінка у грибів на 80...90 % складається з полісахаридів, азотовмісних (хітин) і безазотистих сполук. У клітинній стінці також містяться білки, ліпіди, поліфосфати, нуклеїнові кислоти.

Цитоплазма. Внутрішній вміст клітини становить цитоплазма – колоїдна фаза з різним ступенем в'язкості. Через цитоплазму здійснюється безпосередній зв'язок між органеллами клітини. В цитоплазмі розташовуються ядра, мембранні структури, рибосоми, лізосоми, мітохондрії, вакуолі.

Ядро – основна структура будь-якого еукаріотного організму. Воно здійснює генетичну і метаболічну функції, контролюючи диференціацію клітини, синтез білка та інших з'єднань, обмінні процеси, розмноження, синтез клітинних структур. Зазвичай в грибній клітині міститься не одне, а кілька ядер. Ядро грибів має чіткі межі, визначені подвійною мембраною, містить ядерце і хроматинову мережу. Ядерна мембрана має пори, через які йде перенесення макромолекул з ядра в цитоплазму. Розміри ядер знаходяться в межах 1...3 мкм, але у деяких грибів їх розміри досягають 20...25 мкм. У вегетативному міцелії по мірі росту і ділення клітин переважно здійснюється мітотичний поділ ядра; при утворенні гамет і проростанні зиготи здійснюється мейоз. При мітотичному поділі ядра йде подвоєння хромосом, утворюється диплоїдне ядро, при мейозі – зменшення хромосом і утворення гаплоїдного ядра. У міцелії грибів можуть бути одночасно ядра диплоїдні і гаплоїдні. Це так званий гетерокаріоз грибів.

Мембранні структури представлені цитоплазматичною мембраною, цитоплазматичним ретикулоном і апаратом Гольджі. Цитоплазматична мембрана виконує кілька функцій: бере участь в транспорті речовин, здійснює інші метаболічні процеси.

Цитоплазматичний ретикулоном (система внутрішніх мембран, або ендоплазматична мережа) являє собою систему каналців, пухирців або

цистерн. Апарат Гольджі являє собою групу дисковидних платівок з одинарною мембраною. Апарат Гольджі морфологічно пов'язаний з ядерною мембраною та іншими мембранами ендоплазматичного ретикулюма. Роль апарату Гольджі багатогранна: це транспортна структура, а на його окремих елементах йде синтез нових мембран.

Рибосоми – частинки, що складаються з РНК і білків, розташовані на внутрішній стороні каналців, пухирців або цистерни цитоплазматичного ретикулюма. На рибосомах здійснюється синтез білка. Рибосоми в основному містяться в цитоплазмі дифузно.

Лізосоми, що є похідними апарату Гольджі, різноманітні за формою. Вони відшнуровуються від апарату Гольджі у вигляді бульбашок і розподіляються по клітині, виконуючи різні функції: розщеплюють білки; в них відкладаються і розщеплюються всі речовини, що підлягають видаленню з клітини.

Ломасоми – утворення у вигляді бульбашок, що виникають між клітинною стінкою і цитоплазматичною мембраною в результаті відшарування мембрани від стінки. У ломасоми надходять ферменти лізису і синтезу клітинної стінки.

Мітохондрії – структури з подвійною мембраною. Зовнішня поверхня мітохондрій гладка, внутрішня утворює вгинання, які називають кристами. Крісти збільшують активну поверхню мітохондрій. На мітохондріях розташовуються багато ферментів, зокрема ферменти окисного фосфорилування, ланцюга переносу електронів та ін. Тут відбувається біосинтез білків, вуглеводів, ліпідів. Мітохондрії мають власну ДНК, локалізовану у визначених зонах, які можна назвати мітохондріальними "нуклеотидами". Тому мітохондрії є саморепродукуючими структурами, а не виникають в клітині заново.

Вакуолі – похідні або ендоплазматичного ретикулюма, або апарату Гольджі, які знаходяться в цитоплазмі. Якщо вакуолі є похідними ендоплазматичного ретикулюма, вони містять запасні поживні речовини: волютин, ліпіди, глікоген. Якщо ж вакуолі є похідними апарату Гольджі, то вони акумулюють продукти обміну, які стали токсичними.

Дріжджі – одноклітинні мікроскопічні гриби. Клітина дріжджів має оболонку, цитоплазму і чітко диференційоване ядро. У деяких видів дріжджів клітинна оболонка ослизнюється і в рідкому середовищі дріжджі утворюють пластівці. Такі дріжджі використовують в пивоварінні, оскільки вони сприяють швидкому освітленню пива. В цитоплазмі дріжджів знаходяться 1 – 2 вакуолі, які відділені тонопластом, мітохондрії, рибосоми, апарат Гольджі, лізосоми, а також різні включення (глікоген, волютин та ін.). Деякі види дріжджів містять до 30 – 50% жиру (*Endomyces vernalis*), тому їх використовують в промисловості для одержання мікробіологічним шляхом жирів.

У класифікації грибів особливе місце займають дріжджі – одноклітинні

гриби, що відносяться до класу аскоміцетів (Ascomycetes). Клітини дріжджів нерухомі, іноді утворюють так званий псевдоміцелій. Дріжджі широко поширені в природі (у ґрунті, на поверхні рослин, плодів, ягід і овочів, в самих різних субстратах, що містять цукор) і використовуються людиною з найдавніших часів в харчовій промисловості, виноробстві, пивоварінні, хлібопеченні та інших виробництвах, пов'язаних з бродінням, тобто з перетворенням цукру в етиловий спирт і діоксид вуглецю під впливом життєдіяльності дріжджів. Однак спонтанний розвиток дріжджів у харчових продуктах, що містять цукор, викликає їх псування: продукт спучується, відбувається зміна його запаху і смаку.

Форма і будова дріжджової клітини. Клітини дріжджів мають найрізноманітнішу форму: округлу, овальну, овально-яйцеподібну, еліптичну, циліндричну, лимоноподібну, серпоподібну тощо. Довжина дріжджової клітини не перевищує 10...15 мкм.

Дріжджі є еукаріотами, будова клітини дріжджів подібна будові клітини грибів. До складу клітинної стінки дріжджів входять геміцеллюлози (60...70% сухої маси), невеликі кількості білків, ліпідів і хітин. В цитоплазмі клітини дріжджів розташовані ядро з ядерною мембраною, є ендоплазматична сітка, апарат Гольджі, лізосоми, рибосоми, мітохондрії і вакуолі з запасними поживними речовинами, які можуть бути крапельками жиру, волютину, глікогену.

При розвитку на рідких середовищах клітинні стінки деяких дріжджів можуть ослизнитися і склеюватися один з одним, утворюючи осідаючі на дно пластівці. Такі дріжджі називають пластівцевидними. Дріжджі, клітинні стінки яких не ослизняються, називаються пилоподібними.

ЛЕКЦІЯ 4

Тема 4. Розмноження мікроорганізмів

1. Поняття росту та розмноження у бактерій. Фази розмноження клітин мікроорганізмів.

2. Розмноження сферичних, паличковидних, витких та інших форм мікроорганізмів.

3. Простий статевий тип розмноження мікроорганізмів. Швидкість розмноження мікроорганізмів.

4. Розмноження грибів, водоростей та найпростіших тварин (протозоа).

5. Розмноження вірусів і фігів.

1. Поняття росту та розмноження у бактерій. Фази розмноження клітин мікроорганізмів.

Основною відмінною рисою живих організмів від не живих є здатність їх рости і розмножуватись. Ріст – це фізіологічний процес, який проявляється в збільшенні розмірів і маси клітини.

Ріст бактеріальної клітини обмежений. Тому, досягнувши певних розмірів, клітина припиняє ріст і починає ділитись (розмножуватись).

Для бактерій характерний індивідуальний ріст і ріст в популяції. При індивідуальному рості мікроорганізмів відбувається збільшення розмірів клітини і її маси. Так, у коків ріст клітини проходить рівномірно в усіх напрямках. При цьому значно збільшується радіус клітини. Паличкові форми мікроорганізмів ростуть в довжину, тобто в напрямку довгої осі.

Розмноження – це збільшення числа клітин бактерій в популяції. Найчастіше бактерії розмножуються бінарним поділом, коли з однієї клітини утворюється дві, кожна з яких знову ділиться. Поділ прокаріотної клітини починається, як правило, через деякий час після завершення циклу поділу ДНК. Ділення клітини бінарним способом відбувається наступним чином: спочатку ділиться нуклеоїд, який містить спадкову генетичну інформацію; потім на стінках клітини в середній частині з'являються вирости, які збільшуються і утворюють перегородку; новоутворена перегородка ділить клітину пополам і дочірні клітини відділяються одна від одної. Зовнішні шари синтезуються пізніше. Клітини більшості грамнегативних бактерій діляться шляхом перетяжки. Під час реплікації ДНК і утворення перегородки, клітина бактерії інтенсивно росте. В цей період здійснюється синтез пептидоглікана, утворюється цитоплазматична мембрана, рибосоми та інші органели.

Варіантом бінарного поділу є брунькування, при якому на одному з полюсів материнської клітини утворюється маленький виріст, що збільшується в процесі росту. Поступово брунька досягає розмірів материнської клітини і відділяється від неї. Брунькуючі клітини піддаються старінню. При бінарному поділі материнська клітина дає початок двом дочірнім клітин, а сама зникає. При брунькуванні материнська клітина дає початок дочірній клітині і між ними можна виявити морфологічні відмінності.

Розрізняють 4 фази розмноження:

1. лаг-фаза або фаза затримки росту. Вона триває дві години. Це відбувається тому що бактерії пристосовуються до умов, кількість клітин впродовж цієї фази не збільшується.

2. фаза логарифмічного росту – при цьому в геометричній прогресії збільшується кількість клітин. Вона ще називається експоненціальною і триває 5-6 годин. За оптимальних умов бактеріальна клітина може ділитися кожні 15-30 хв.

3. стаціонарна фаза – це коли кількість нових клітин дорівнює кількості відмерлих клітин. Ця фаза триває 2 години.

4. фаза відмирання – в цій фазі кількість нових клітин менше ніж кількість відмерлих. У споруутворюючих мікроорганізмів йде процес утворення спор.

2. Розмноження сферичних, паличковидних, витких та інших форм мікроорганізмів

У сферичних бактерій при діленні клітини може утворюватися одна або кілька поперечних перегородок. Якщо, виникає одна перегородка, то клітина ділиться в одній площині. В такий спосіб розмножуються мікрококи, диплококи, стрептококи.

Монококи – якщо під час поділу утворюється одна поперечна перетинка в одному просторовому напрямку, а після поділу материнська і дочірня клітини розходяться.

Диплококи – якщо під час поділу утворюється одна поперечна перетинка в одному просторовому напрямку, а після поділу материнська і дочірня клітини не розходяться, залишаються у вигляді двійчаток.

Стрептококи – якщо під час поділу утворюється одна поперечна перетинка в одному просторовому напрямку, а після поділу материнські і дочірні клітини не розходяться, а створюють ланцюжки.

Тетракоки – якщо під час поділу утворюються дві поперечні перетинки у двох взаємно перпендикулярних напрямках (з однієї клітини утворюється чотири).

Сарцини – якщо під час поділу утворюються три поперечні перетинки в трьох взаємно перпендикулярних напрямках, утворюються скупчення клітин у вигляді пакетів по 8, 16, 32 і т.д. шт.

Стафілококи – якщо під час поділу утворюється багато поперечних перетинок у різних просторових напрямках, клітини після поділу не розходяться і розміщуються у вигляді виноградного грона.

Паличковидні або циліндричні мікроорганізми теж розмножуються бінарним поділом. Спочатку відбувається ріст клітини в довжину. Через деякий час паличка посередині починає звужуватись і розпадається на дві дочірні клітини. Поділ з утворенням поперечної перетинки притаманний грам позитивним бактеріям.

Розрізняють ізоморфний і гетероморфний тип ділення паличкових бактерій.

Ізоморфний тип ділення – утворюються дві однакових за розмірами клітини.

Гетероморфний тип ділення – утворюються клітини різних розмірів.

У звивистих форм мікроорганізмів, наприклад, у спірохет, ділильна перегородка може розміщуватись не перпендикулярно клітині, а вздовж її довгої осі. При цьому відбувається «розгвинчування» клітини на дві дочірні.

Деякі види мікроорганізмів, наприклад, міксобактерії, розмножуються перешнуровуванням. При цьому клітина бактерії в місці ділення починає звужуватись і поступово витягується, оболонка клітини в звуженому місці з обох сторін вгинається і ділить клітину пополам.

Окремі мікроорганізми можуть розмножуватись брунькуванням, яке є різновидом бінарного ділення. Цей спосіб розмноження характерний для дріжджів і бактерій роду *Nitrobacter*. При брунькуванні на поверхні клітини з'являється випуклість, яка швидко збільшується в розмірах. На краях

випуклості оболонка вгинається в середину клітини і дочірня клітина від'єднується від материнської. Брунькування завжди відбувається на одному і тому ж полюсі клітини. Материнська клітина шляхом брунькування може утворити 3 – 4 дочірніх, після чого вона старіє і відмирає.

3. Простий статевий тип розмноження мікроорганізмів. Швидкість розмноження мікроорганізмів.

Статеве розмноження у бактерій здійснюється в примітивній формі. У бактерій не утворюються гамети, і немає злиття клітин. Однак найважливіша подія статевого процесу відбувається - це обмін генетичним матеріалом, що називається генетичною рекомбінацією. При статевому процесі частина ДНК бактеріальної клітини донора транспортується в клітину реципієнта і заміщає аналогічну частину ДНК реципієнта під впливом необхідних ферментів. Новостворена рекомбінантна ДНК бактерії містить гени обох батьківських клітин. Особливістю клітин, утворених при статевому розмноженні, є те, що у них спостерігається різноманітність ознак, завдяки з'єднанню генів різних організмів. Це є основою еволюційних перетворень і появи нових видів бактерій. Вивчено три способи утворення рекомбінантів: трансформація, трансдукція та кон'югація.

Трансформація – генетична модифікація клітини шляхом введення і подальшої експресії в ній чужорідного генетичного матеріалу (ДНК). У випадку бактерій, термін «трансформація» не використовується, якщо генетичні зміни були викликані процесами трансдукції або кон'югації, при яких передача ДНК здійснюється за допомогою бактеріофагів та кон'югаторних плазмід.

В бактеріях для опису процесів трансформації використовується термін компетентність – стан, коли бактерії мають здатність приймати ДНК із зовнішнього середовища. Існують дві форми компетентності, природна і штучна.

Природна компетентність – бактерії багатьох видів (можливо, більшості) природно здатні до прийняття ДНК. В стані компетентності бактерії виробляють особливий низькомолекулярний білок (фактор компетентності), що активує синтез автолізину, ендонуклеази і ряду факторів транскрипції. Автолізин частково руйнує клітинну стінку, що сприяє проникненню ДНК через неї, а також знижує чутливість бактерій до осмотичного шоку. В стані компетентності також знижується загальна інтенсивність метаболізму.

Штучна компетентність не кодується в генах клітин. Натомість, вона викликається лабораторними процедурами, в яких клітини пасивно робляться проникними для ДНК, використовуючи умови, які зазвичай не зустрічаються в природі. Ці процедури порівняно легкі і прості, і широко використовуються в молекулярній біології і генній інженерії бактерій. Штучно компетентні клітини стандартних бактеріальних штамів навіть виробляються комерційно, їх можна придбати замороженими і готовими для використання.

Трансдукція – перенесення генетичної інформації від донора реципієнту за допомогою помірних бактеріофагів, які на відміну від вірулентних не завжди викликають лізис бактеріальної клітини. В явищі трансдукції беруть участь бактерія-донор, трансдукуючий фаг і бактерія-реципієнт. Помірні бактеріофаги можуть знаходитися в цитоплазмі бактерії в автономному стані або включаються в структуру ДНК у вигляді профага. В інтегрованому стані геном помірного фага передається потомству клітини нарівні з іншими хромосомними генами. Переходячи в автономний стан, ці фаги можуть приєднувати до власного генома невеликі фрагменти хромосоми, розташовані поруч з місцем включення до неї профага. При інфікуванні нових бактерій помірні фаги, що несуть хромосомні гени, виконують функції переносника генетичного матеріалу. Розрізняють три види трансдукції: загальну, або неспецифічну, специфічну й абортивну.

При *загальній трансдукції* може бути передана будь-яка ділянка хромосоми бактерій або кілька ділянок, що визначають цілу низку наслідуваних ознак. *Специфічна трансдукція* здійснюється групою фагів, здатних трансдукувати гени, розміщені поруч з місцем включення генома фага в нуклеоїд бактерій при її лізогенізації. Деякі помірні фаги сальмонел і шигел здійснюють лізогенну або фагову конверсію антигенів одночасно з лізогенізацією клітини-реципієнта. При конверсії разом з фагом передається фрагмент хромосоми, який контролює синтез соматичного антигену, що змінює антигенну структуру реципієнта.

При *абортивній* трансдукції внесений фагом фрагмент нуклеоїда не включається в нуклеоїд реципієнта; він знаходиться в цитоплазмі і при діленні передається тільки одній клітині, друга дочірня клітина отримує генетичний апарат реципієнта.

Простим статевий тип розмноження мікроорганізмів називається кон'югацією. Це процес, при якому клітини наближаються одна до одної, з'єднуються між собою за допомогою кон'югаційного містка (статеві фімбрії), і обмінюються генетичною інформацією (молекулами ДНК та РНК).

У процесі кон'югації приймають участь 2 типи клітин – донори і реципієнти. Донорами виступають клітини, які здатні віддавати генетичний матеріал. Їх називають F+ клітинами (від англійського fertility – плодовитість). Реципієнти – це клітини, які приймають генетичний матеріал, їх позначають F–.

На початок кон'югації клітини донора F+ і реципієнта F– з'єднуються між собою за допомогою пілі і утворюють кон'югаційний місток. Потім генетичний матеріал із клітини донора через місток переміщується в клітину–реципієнт. У результаті цього процесу утворюється організм з новим генетичним матеріалом, який може дати початок нащадкам з новими біологічними властивостями.

Процес кон'югації може бути порушений, якщо суспензію, де відбувається розмноження мікроорганізмів, піддати сильному струшуванню.

Це призводить до руйнування кон'югаційного містка і припинення процесу кон'югації, однак, життєздатність клітин не порушується.

Швидкість розмноження мікроорганізмів залежить від ряду умов і може коливатися в різних межах. Якщо в наявності усі необхідні умови для росту і розвитку, то розмноження може відбуватися дуже швидко. За наявності в середовищі необхідних поживних речовин, відповідної температури, оптимального рН середовища, наявності кисню для аеробів і т.д. поділ кожної клітини може відбуватися через кожні 20-30 хв.

Якщо взяти для розрахунку, що поділ буде відбуватися кожні 20 хвилин, то з однієї клітини за короткий проміжок часу можна отримати величезну кількість мікроорганізмів:

За 24 години при діленні через кожні 20 хвилин можливо отримати 72 покоління бактерій і утворилося б $272 = 472 \cdot 10^{19}$ клітин. Якщо прийняти, що 1 млрд клітин буде важити 1 мг, то $472 \cdot 10^{19}$ клітин будуть важити 4720 тон.

Одна клітина протягом 136 днів розплодиться у популяцію вагою з Землю ($10 - 13 \text{ г} \cdot 2136 = 8,7 \cdot 1024 \text{ кг}$), а ще за 18 днів — вагою із Сонце ($10 - 13 \text{ г} \cdot 2154 = 2,3 \cdot 1030 \text{ кг}$).

Однак ці цифри слугують лише ілюстративним матеріалом, показуючи швидкість розмноження мікроорганізмів. У природі така швидкість розмноження не має місця, так як немає умов для безперешкодного розмноження бактерій протягом тривалого часу.

Значна швидкість розмноження має для бактерій велике біологічне значення. Вона сприяє збереженню цих видів на планеті. Відсутність захисних пристосувань могло б призвести до швидкого вимирання мікроорганізмів, однак надзвичайна швидкість їх розмноження зберігає їх від цього. За настання несприятливих умов мікроорганізми масово гинуть, але достатньо зберегтися кільком клітинам певної бактерії, як при настанні сприятливих умов вони повністю відновлюють популяцію.

4. Розмноження грибів, водоростей та найпростіших тварин (протозоа)

Розмноження грибів відбувається різними шляхами. Розрізняють три способи розмноження: вегетативне, безстатеве і статеве розмноження грибів. Способи безстатевого і статевого розмножень грибів надзвичайно різноманітні і є основою для класифікації цих організмів.

Вегетативне розмноження — це розмноження без утворення спеціалізованих структур розмноження. Існують два шляхи вегетативного розмноження. Розмноження може відбуватися окремими ділянками міцелію, для чого шматочки міцелію переносять з одного середовища на інше. Можна також з плодового тіла стерильно вирізати шматочок і помістити на поживне середовище. Потрапивши в сприятливі умови, така частинка починає рости, розвиватися і утворює міцелій нового організму. Вегетативне розмноження характерне для більшості пліснявих грибів, актиноміцетів і проактиноміцетів.

У дріжджів вегетативне розмноження здійснюється шляхом

брунькування та ділення клітини пополам.

Безстатеве розмноження. Безстатевим називається розмноження з утворенням спеціалізованих структур розмноження, утворенню яких не передує попереднє злиття клітин або об'єднання ядер. Безстатевий цикл у грибів зазвичай повторюється багато разів.

Безстатеві спори в одних грибів утворюються в спеціальних вмістилищах (ендогенно), а в інших – відкрито (екзогенно). Безстатеві спори, що утворюються в спорангіях, називаються спорангієспорами. Вони можуть бути рухомими та нерухомими. Спорангії утворюються на спеціальних гіфах, які називаються спорангієносіями. Спорангієносій з спорангієм піднімається над субстратом. Таке розташування спорангіїв сприяє поширенню спор потоками повітря після їх вивільнення.

Безстатеві спори, що утворюються екзогенно, називаються конідіями. Вони завжди нерухомі, утворюються на спеціальних гіфах – конідієносіях. Конідії і конідієносці дуже різноманітні. Наприклад, конідії бувають пофарбовані у всі кольори, варіюють в розмірах, бувають круглі, овальні, циліндричні, голкоподібні, зірчасті та ін.; мають різну кількість клітин – від однієї до безлічі. Перегородки в спорах можуть розташовуватися поперечно і вздовж

Безстатеве розмноження грибів здійснюється за допомогою оідій, конідій і спорангієспор.

Оідії – це спори, які утворюються у вищих грибів при розпаданні міцелія на окремі частинки.

Конідії і спорангії утворюються у нижчих грибів на спеціальних гіфах – спорангієносцях і конідієносцях. Спорангієносці містять на верхівках спорангіїв, які при дозріванні лопають і з них висівається безліч спор. Потрапляючи в сприятливе середовище, спори дають початок новим організмам. На відміну від спорангієносців, конідієносці не мають спеціальних утворень для спор, а тому спори вільно відшнуровуються від їх поверхні.

Безстатевим шляхом можуть розмножуватись дріжджі. Так, при нестачі поживних речовин клітина дріжджів утворює міцну сумку (аск), де дозрівають 2, 4, 6, 8 – 12 аскоспор. Після дозрівання аска лопає і їх спори виходять назовні, даючи початок новим колоніям.

Статеве розмноження грибів проходить при злитті 2-х клітин і подальше об'єднання або злиття ядер. Продукт злиття клітин – зигота, або зигоспора. Кінцевий результат статевого процесу – утворення спеціальних спор, за допомогою яких і здійснюється і подальше розмноження особи. До стадій статевого процесу відносяться плазмोगамія, каріогамія і мейоз.

Плазмोगамія – злиття клітин і об'єднання двох протопластів, які приносять два різних ядра в одну клітину.

Каріогамія – злиття ядер в одне диплоїдне ядро – ядро зиготи.

Мейоз – поділ диплоїдного ядра з редукцією числа хромосом і відновлення в ядрах гаплоїдного числа хромосом

Плазмогамія і каріогамія можуть йти послідовно і відразу, а можуть бути розділені в часі та просторі. Статеві структури грибів називаються гаметангіями. Вони можуть утворювати статеві клітини – гамети.

Дріжджі розмножуються, як вегетативним, так і статевим шляхом. Аскоспори – спори статевого розмноження, що утворюються. Гаплоїдні брунькуючі клітини дріжджів можуть зливатися (копулювати), при цьому зливаються ядра, а потім вони редукційно діляться і утворюються чотири аскоспори. У деяких видів дріжджів число аскоспор може бути два, чотири, вісім і навіть дванадцять. Диплоїдні клітини дріжджів крупніші і фізіологічно активніші гаплоїдних. У промисловості використовують переважно диплоїдні і поліплоїдні раси.

Водорості розмножуються діленням клітини пополам, а також безстатевим і статевим шляхом. При безстатевому розмноженні утворюються нерухомі і рухомі спори. (авто – і зооспори). Статеве розмноження водоростей полягає в злитті ядер двох клітин і утворенні статевих спор.

Найпростіші розмножуються поділом клітини пополам. Однак, поділ може проходити нерівномірно, тому, використовуючи явище регенерації кожна із новоутворених клітин добудовує собі органоїди, яких їй не вистачає.

5. Розмноження вірусів і фагів

Репродукція вірусів відбувається тільки в клітинах живого організму. Тому, віруси є паразитами, які спричиняють інфекційні захворювання людини, тварин і рослин. Репродукція вірусів проходить інакше, ніж у бактерій. Спочатку віруси локалізуються разом з поживними речовинами навколо клітини, потім адсорбуються на її поверхні і проникають в середину. В клітині вірус звільняється від білкової оболонки і перебудовує обмін речовин клітини на свої потреби. При цьому за рахунок речовин клітини господаря відбувається синтез нуклеїнових кислот вірусів. Підраховано, що за кілька хвилин в одній клітині може утворитись 50 – 100 нових вірусів. Новоутворені віруси разом з продуктами обміну клітини видаляються в міжклітинний простір (якщо це багатоклітинний організм). Цикл повторюється.

Репродукція фагів відбувається подібно вірусам, але має свої особливості. Розмноження фага в клітині господаря є дуже складним процесом. Спочатку відбувається адсорбція фага на поверхні чутливої бактеріальної клітини, у якої є відповідні рецептори. За адсорбцією слідує ін'єкція, тобто введення ДНК фага в бактеріальну клітину. Базальна платівка фіксується на клітині, хохол відростка скорочується і порожній стрижень входить в бактеріальну клітину. ДНК фага через стрижень потрапляє всередину клітини бактерії, а білкова оболонка фага залишається зовні. Ін'єкційована ДНК фага викликає повну перебудову метаболізму зараженої клітини. Відразу ж припиняється синтез ДНК і РНК бактеріальних білків. Потім утворюються фагова ДНК і білки оболонки фага. Наступний етап – дозрівання, який полягає у поєднанні фагової ДНК з білком оболонки і утворення зрілих інфекційних фагових частин. Дозрівання фагів – складний

багатоступінчастий процес. У кінці дозрівання клітинна стінка бактерії під дією фагового лізоциму розчиняється і новостворені фаги покидають клітину, а клітина гине. Тривалість періоду дозрівання фагів і величина "врожаю" фагових часток варіюють в широких межах у залежності від виду фага і бактерії, умов середовища.

Фаги, як правило, лізують заражені ними бактерії, тому їх називають ще вірулентними. Але є фаги, які заражають клітини бактерій-господарів, але не розмножуються в них і не викликають лізису. Такі фаги називаються помірними, а бактерії - "лізогенними". Мабуть, розмноження помірних фагів відбувається синхронно з поділом клітини бактерії. Фаг у такому стані називають профагом, його ДНК інтегрована в хромовій клітині господаря.

Бактеріофаги наносять велику шкоду в молочній промисловості при виробництві сирів, сметани, масла, а також маргарину. Вони знищують молочнокислих стрептококів, які використовуються в заквасках при виготовленні цих продуктів. Під впливом бактеріофагів клітини стрептококів розчиняються і гинуть. При виробництві антибіотиків актинофаги розчиняють промислову культуру актиноміцетів – продуцентів антибіотиків. В медицині бактеріофаги використовуються для лікування багатьох захворювань, зокрема дизентерії.

ЛЕКЦІЯ 5

Тема 5. Живлення мікроорганізмів

1. Хімічний склад клітини бактерій
2. Стан клітин мікроорганізмів залежно від концентрації речовин назовні та в середині клітини
3. Способи живлення організмів
4. Живлення мікроорганізмів вуглецем, азотом.

1. Хімічний склад клітини бактерій

Основними компонентами мікробної клітини є: вода, мінеральні речовини та органічні сполуки – білки, нуклеїнові кислоти, вуглеводи та ліпіди. Для синтезу всіх цих клітинних компонентів мікроорганізмам потрібні поживні речовини – розчинні у воді сполуки, з яких мікроорганізми будують свою клітину та одержують енергію.

Мікробна клітина складається із таких же основних хімічних елементів, як і клітини вищих рослин і тварин. Залежно від того в якій кількості ці елементи знаходяться в клітині їх ділять на макро-, мікро- і ультрамікроелементи.

Загальновідомо, що близько 99 % маси рослин, тварин і людини становлять 10 хімічних елементів: вуглець, кисень, водень, азот, фосфор, калій, кальцій, магній, сірка і залізо. На інші хімічні елементи приходить близько 1%, тому їх називають мікро- або ультрамікроелементами. До них відносять

молібден, мідь, бор, йод, кобальт та інші.

Основним складовим компонентом бактеріальної клітини є вода, яка становить близько 75 – 85% від загальної маси клітини. Частина води в бактеріальній клітині знаходиться у вільному стані, а частина – у зв'язаному. Зв'язана вода є основним структурним розчинником. Вільна вода забезпечує дисперсне середовище для колоїдів і служить розчинником для кристалічних речовин, джерелом водневих і гідроксильних іонів. Наприклад, гідролітичні процеси розщеплення білків, вуглеводів і ліпідів проходять в результаті приєднання до них води, шляхом відщеплення іонів води можуть синтезуватися нові складні молекули речовин. За допомогою води підтримується гідростатичний тиск – тургор клітини. Однак, в залежності від умов зовнішнього середовища вміст води в клітинах може змінюватись. Будь-яка втрата води клітиною спричиняє її висихання і порушення процесів обміну речовин. При цьому змін зазнають основні клітинні структури, що з часом призводить до загибелі клітини.

Суха речовина мікроорганізмів складається в основному із органічних сполук – білків, вуглеводів, жирів та ін. Серед органічних речовин клітини на долю білків у бактерій приходить 50 – 80 % від маси сухих речовин, у дріжджів – 40 – 60% і у грибів – 15–40%. Білки відіграють найважливішу роль в житті мікроорганізмів. Вони мають таку ж будову як і білки вищих тварин і рослин.

Вміст білків в клітині постійно змінюється. Він залежить від віку і виду мікроорганізма, а також від складу поживного середовища. Чим більше в поживному середовищі азотних речовин, тим більше білка входить до складу протоплазми клітини.

Мікробна клітина містить прості (протеїни) і складні білки (протеїди). Особливе місце займають нуклеопротеїди, до складу яких крім білків входять ще й нуклеїнові кислоти. Вони відіграють важливу роль при розмноженні мікробів. Синтез білка в клітині здійснюється за допомогою рибонуклеїнової кислоти (РНК).

Із інших складних білків до складу мікроорганізмів входять глюкопротеїди, ліпопротеїди, хромопротеїди і ферменти.

В клітині мікроорганізмів важливе значення відіграють вуглеводи. Вони використовуються для побудови клітинних стінок, капсул і служать джерелом енергетичного матеріалу. У клітинах бактерій вуглеводи зустрічаються у вигляді пентоз, гексоз і поліцукрів глікогену, гранулози, декстрину, клітковини та інших сполук.

Вміст ліпідів (жири і жироподібні речовини) у мікроорганізмів становить близько 3–7% від маси сухих речовин і лише у деяких видів дріжджів він становить 40 %. В основному ліпіди знаходяться в оболонці клітини та в поверхневих шарах цитоплазми. Вони в значній мірі впливають на проникність клітинної оболонки, обумовлюють токсичні й антигенні властивості хвороботворних мікробів і можуть накопичуватись в клітині як запасний

поживний матеріал. Значна кількість ліпідів пов'язана з іншими речовинами клітини в складні комплекси, які відіграють важливу роль в житті бактеріальної клітини (наприклад, фосфоліпіди).

Провідну роль в житті мікроорганізмів відіграють органогени – кисень, водень, вуглець і азот. В процентному відношенні до сухої речовини бактерії вони становлять: вуглець – 45 – 55, азот – 8–15, кисень – 30, водень – 6-8%. Відповідно дріжджі містять (%): вуглецю – 49, азоту – 12, кисню – 31, водню – 6; мікроскопічні гриби (%): вуглецю – 47, азоту – 5, кисню – 40, водню – 6.

Крім органогенів до складу мікробної клітини входять загальні елементи – мінеральні речовини клітини. Вони виконують функцію стабілізаторів колоїдного стану цитоплазми і є активаторами ферментів. Їх присутність навіть в мізерно малих дозах (мікродозах) впливає на морфолого-культуральні властивості мікроорганізмів, на кількість і якість метаболітів.

S, P, K, Ca, Mg, Fe відносять до мікроелементів. Сірка необхідна для синтезу сірковмісних амінокислот і деяких коферментів. Вона використовується мікроорганізмами у вигляді сульфатів і відновлюється в процесі метаболізму. Деякі мікроорганізми використовують відновлені сполуки сірки в енергетичних цілях (тіобацили і сіркобактерії).

Фосфор входить до складу нуклеїнових кислот, АТФ, коферментів, фосфоліпідів та ін. На відміну від інших елементів, фосфор в клітині мікроорганізмів зустрічається лише в окисленому стані – в формі H_3PO_4 . Найкращим джерелом фосфору для мікроорганізмів є солі ортофосфорної кислоти.

Калій потрібен для нормальної життєдіяльності мікроорганізмів. Він відіграє важливу роль в перетворенні вуглеводів і синтезі клітинної речовини.

Кальцій входить до складу ендоспор бактерій у вигляді солей дипіколінової кислоти. Він необхідний для росту деяких видів мікроорганізмів (*Azotobacter*, *Clostridium pasteurianum*). Джерелом кальцію служать водорозчинні солі.

Магній входить до складу бактеріохлорофілу в зелених, пурпурних бактерій, сіркобактерій і ціанобактерій, а також виступає активатором багатьох ферментів.

Залізо відноситься до незамінних поживних елементів. Воно входить до складу простетичних груп деяких ферментів. Тому, при нестачі заліза порушується окислювальна активність у бактерій, у плісневих грибів порушується засвоєння мінеральних форм азоту.

Для нормального росту і розвитку мікроорганізмами крім мікроелементів потребують мікро– і ультрамікроелементи, до яких відносять Zn, Co, Mo, Cu, J, Br. При відсутності мікроелементів порушуються важливі життєві функції мікроорганізмів, оскільки вони входять до складу ферментів. Так, наприклад, цинк входить до складу ферментних білків, без нього нормальна фізіологічна активність протоплазми порушується. Молібден входить до складу фермента нітрогенази, який приймає участь в процесах

фіксації азоту атмосфери.

Вміст мінеральних речовин, білків, вуглеводів і ліпідів змінюється в бактеріальній клітині залежно від виду мікроорганізмів і умов існування. Наприклад, залізобактерії більше, ніж інші види мікроорганізмів містять заліза, сіркобактерії – сірки. Тому, вирощуючи мікроорганізми, необхідно включати в поживні середовища комплекс поживних елементів відповідно до потреб клітини. Це має велике практичне значення при вирощуванні мікроорганізмів – продуцентів білків, жирів і біологічно активних речовин.

2. Стан клітин мікроорганізмів залежно від концентрації речовин назовні і в середині клітини

Мікроорганізмам, як і іншим живим істотам, для нормального росту і розвитку потрібні поживні речовини. Надходять поживні речовини в клітину бактерій із оточуючого середовища. Мікроорганізми поглинають поживні речовини і виділяють продукти обміну всією поверхнею тіла, тому, обмін між клітиною і зовнішнім середовищем здійснюється швидко й інтенсивно. Однак, інтенсивність надходження речовин в клітину залежить від концентрації клітинного соку і концентрації поживних речовин в оточуючому середовищі.

Встановлено, що концентрація в клітині бактерій значно вища за слабкі водні розчини, в яких живуть мікроорганізми. Осмотичний тиск в клітині бактерій коливається від 3 до 6 Ат, однак може бути і вищим – від 3,5 до 16,5 Ат (для мікроорганізмів засушливих районів).

Існують три типи станів клітини, які обумовлені співвідношенням концентрації речовин назовні і в середині клітини.

1-ий стан – нормальний стан клітини – тургор – коли клітина знаходиться в ізотонічному розчині (0,85% NaCl). В цьому випадку дифузія осмотично активних речовин в клітину формує внутрішньоклітинний осмотичний тиск. Він зветься тургор і коливається у великих діапазонах 1,5 МПа. Тургор забезпечує транспорт води у клітину. Цитоплазматична мембрана (ЦПМ) щільно прилягає до клітинної стінки і тиск в середині клітини трохи більший ніж тиск ззовні.

2-ий стан – плазмоліз – якщо клітина потрапляє в середовище з високим осмотичним тиском (гіпертонічний розчин), то ЦПМ віддає воду і вміст клітини зневоднюється, стискається. Клітина переходить спочатку у стан анабіозу, тобто зберігає життєздатність, а потім – до стану абіозу, гине. В технології консервування застосовують при солінні 25% NaCl і при виготовленні варення 50% сахарозу. В такій концентрації вони виявляють бактеріостатичну дію, тобто бактерії не розмножуються але не гинуть і бактеріцидну дію, коли настає загибель бактерій. Однак у різних видів мікроорганізмів плазмоліз проявляється по різному. Найбільш стійкі до плазмолізу – сінна паличка, стафілококи і сарцини, найбільш чутливі – кишкова паличка, холерний вібріон, паличка сибірської виразки. Явище плазмолізу широко використовується в харчовій промисловості для

консервування розчинами цукру і солі плодоовочевої продукції. Але в природі зустрічаються мікроорганізми, які нормально розвиваються при високому осмотичному тиску. Такі види мікроорганізмів називають осмофільними.

3-й стан – плазмоптис – бактеріальна клітина потрапляє в гіпотонічний розчин, наприклад, це відбувається коли клітина потрапляє в дистильовану воду. При цьому в протоплазму клітини надходить значна кількість води, що спричиняє її деформацію і загибель.

Існують мікроорганізми, які виявляють резистентність до високої концентрації речовин в середовищі. Стійкі організми, що можуть жити, розвиватись, розмножуватися при високому осмотичному тиску називаються осмофільними. Відомі бактерії галофіли, які здатні розмножуватися в середовищі з високим вмістом NaCl, серед них бувають облігатні галофіли, які потребують обов'язково 12% NaCl і більше. Факультативні галофіти можуть розмножуватися і при 1-2%, і 10-12%.

3. Способи живлення організмів

Для всіх живих організмів характерні два способи живлення – голозойний і голофітний.

Голозойний тип живлення – характерний для тварин (від вищих до найпростіших), живий організм захоплює частинки їжі, яка потім перетравлюється в органах травлення.

Голофітний тип живлення властивий мікроорганізмам. Вони не мають органів травлення, а поживні речовини надходять у водному розчині різними механізмами. Особлива регуляторна роль в транспорті поживних речовин до середини клітини і виведенні метаболітів назовні належить цитоплазматичній мембрані. ЦПМ має пори малого діаметру, які характеризуються вибірковою напівпроникністю.

Більшість органічних сполук (поліцукри, білки та ін.) перед тим як потрапити в мікробну клітину повинні пройти процес розпаду на більш прості сполуки, для яких клітинна мембрана є проникною. Розщеплення полімерів відбувається за допомогою ферментів, які клітина виділяє в оточуюче середовище. Таке явище дістало назву позаклітинного перетравлювання і характерне воно лише для мікроорганізмів.

Надходження води і розчинених в ній поживних речовин із оточуючого середовища в середину клітини відбувається через клітинну оболонку, капсулу і слизові шари. Капсула і слизові шари є достатньо рихлими утвореннями, які не впливають суттєво на транспорт поживних речовин в клітину. Через клітинну стінку легко проникають низькомолекулярні сполуки й іони, не проникають – білки, поліцукри та ін. сполуки.

Основною перешкодою для транспорту (проникнення) речовин в клітину є цитоплазматична мембрана, яка характеризується напівпроникністю (вода проходить через ЦПМ значно легше, ніж солі) і вибірковою проникністю, тобто не всі розчинені речовини можуть проходити через ЦПМ однаково.

ЦПМ регулює не тільки надходження в клітину поживних речовин, але й вихід із неї води і різних продуктів обміну.

Розрізняють кілька механізмів надходження поживних речовин в клітину через ЦПМ: пасивну дифузію, полегшену дифузію, активний транспорт і перенесення груп.

Пасивна дифузія – надходження поживних речовин в клітину здійснюється за рахунок різних концентрацій по різні сторони ЦПМ – зовні і в середині клітини. Завдяки пасивній дифузії в клітину надходять молекули води і деяких газів (O_2 , H_2 , N_2). Пасивне перенесення речовин здійснюється до тих пір, поки концентрація речовин по обидві сторони ЦПМ не вирівняється.

Більшість поживних речовин можуть проникнути в середину клітини лише з допомогою спеціальних переносників – специфічних білків (пермеаз), локалізованих на ЦПМ і циркулюючих між її зовнішніми і внутрішніми шарами. Вважають, що переносники вступають у взаємодію із речовиною на зовнішній стороні ЦПМ, після чого новоутворений комплекс проходить через мембрану на внутрішню сторону, де він розпадається і речовина переходить в цитоплазму. Вільні переносники захвачують продукти обміну і виводять їх назовні. Процес повторюється.

За допомогою переносників здійснюється полегшена дифузія та активний транспорт.

Полегшена дифузія відбувається на основі різниці концентрації по обидві сторони ЦПМ, тобто, коли концентрація речовини вище внутріклітинної. Такий транспорт потребує витрат енергії і здійснюється за градієнтом концентрацій.

Активний транспорт поживних речовин в клітину здійснюється проти градієнта концентрації. Більшість речовин проникає в клітину мікроорганізму шляхом активного транспорту. Такий транспорт потребує витрат енергії (АТФ), яку одержують в результаті дихання або бродіння. Транспорт речовин проти градієнта концентрації використовується клітинами мікроорганізмів для одержання речовин концентрація яких в оточуючому середовищі досить мала.

4. Живлення мікроорганізмів вуглецем, азотом

У мікроорганізмів розрізняють вуглецеве і азотне живлення. По типу засвоєння вуглецевих сполук всі мікроорганізми ділять на автотрофи і гетеротрофи. Автотрофні мікроорганізми засвоюють вуглець із вуглекислоти атмосфери. Гетеротрофні мікроорганізми одержують вуглець із готових органічних сполук.

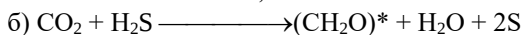
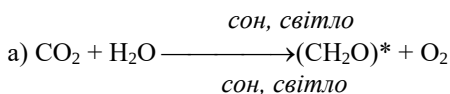
Залежно від того, яке джерело енергії мікроорганізми використовують для одержання вуглецевих сполук їх ділять на фототрофи і хемотрофи. Фототрофи як джерело енергетичного матеріалу використовують сонячне світло, хемотрофи – органічні і неорганічні речовини. Процеси засвоєння вуглецевих сполук залежно від джерел енергії називають відповідно фототрофією і хемотрофією.

Фототрофія характерна для мікроорганізмів, які мають в протоплазмі своєї клітини пігменти типу хлорофілу. До таких бактерій відносять ціанобактерії, пурпурові і зелені сіркобактерії. В клітинах зелених сіркобактерій міститься хлорофіл, а в клітинах пурпурових бактерій – бактеріопурпурин (прохлорофіл). Хімічний хід процесу засвоєння вуглекислоти у даних мікроорганізмів відбувається аналогічно процесу фотосинтезу у вищих рослин. Однак, якщо у вищих рослин донором водню для синтезу вуглецевих сполук виступає лише вода, то у ціанобактерій, зелених і пурпурових сіркобактерій – вода і сірководень. Мікроорганізми, які в якості донорів водню використовують неорганічні сполуки називають літотрофами, а ті, що використовують органічні сполуки – органотрофами. Тому, всі фототрофні мікроорганізми діляться на групи.

- 1) Фотолітоавтотрофи;
- 2) Фотоорганавтотрофи;
- 3) Фотолітогетеротрофи;
- 4) Фотоорганогетеротрофи.

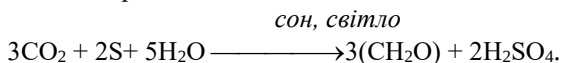
Найбільш поширеним типом фототрофного живлення є:

1. Фотолітоавтотрофія. Хімізм цього процесу можна виразити рівняннями:



* (CH_2O) – сполука рівень відновлення якої відповідає вуглеводам.

За першим рівнянням відновлення CO_2 до органічної речовини за допомогою водню відбувається у ціанобактерій. Другий тип реакцій характерний для пурпурових і зелених сіркобактерій, які відновлюють CO_2 до органічних сполук за допомогою водню, який входить до складу H_2S . При цьому в цитоплазмі клітин у вигляді гранул накопичується сірка, яка згодом окислюється до сірчаної кислоти:



2. Фотоорганогетеротрофія – тип живлення, характерний для мікроорганізмів, які для одержання енергії, крім фотосинтезу, можуть використовувати прості органічні сполуки. До цієї групи відносяться *пурпурові несірковмістні* бактерії. Вони не здатні окислювати сірководень і виділяти сірку в оточуюче середовище.

Хемотрофія характерна для мікроорганізмів, які не містять хлорофілу і в якості енергетичних джерел використовують – неорганічні (літотрофні) і органічні (органотрофні) сполуки. Хемотрофи ділять:

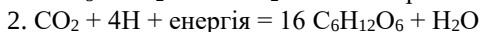
1. Хемолітоавтотрофи;
2. Хемоорганавтотрофи;
3. Хемолітогетеротрофи;

4. Хемоорганогетеротрофи.

Найбільш поширеними типами хемотрофного живлення є:

1. Хемолітоавтотрофія – тип живлення в основі якого лежить процес хемосинтезу. Він характерний для мікроорганізмів, які одержують енергію шляхом окислення неорганічних сполук, таких як H_2 , NH_4^+ , NO_2^- , Fe_2^+ , H_2S та ін.

Хемосинтез був відкритий у 1888 році російським мікробіологом С.М. Виноградським у нітрифікуючих бактерій. Як показали його дослідження в клітинах мікроорганізмів відбувається два процеси: Окислення аміаку в азотисту кислоту і відновлення вуглекислоти до органічної сполуки.



Аналогічним чином здійснюється процес хемосинтезу й іншими хемолітоавтотрофними бактеріями. Однак джерелом енергії для відновлення вуглекислоти в них служить окислення сірководню до сірчаної кислоти.

2. Хемоорганогетеротрофія – тип живлення, характерний для мікроорганізмів, які одержують необхідну енергію і вуглець із органічних сполук. До цієї групи відносять аеробні і анаеробні мікроорганізми, які живуть в ґрунтах та інших субстратах.

Серед хемоорганогетеротрофів виділяють *сапрофітів* – мікроорганізми, які живляться відмерлими тканинами рослин, тварин і *паратрофів* – мікроорганізми, які живляться живим білком і розмножуються в клітинах живих організмів. Це внутріклітинні паразити, до яких відносяться збудники хвороб людини, рослин і тварин. Серед паратрофів виділяють особливу групу мікроорганізмів, які називають коменсалами. Це мікроорганізми, які живуть і живляться за рахунок макроорганізма. Прикладом може бути сапрофітна мікрофлора верхніх дихальних шляхів людини, кишківника і шкіри. Ця мікрофлора є умовнопатогенною, оскільки при ослабленні імунітету, здатна викликати інфекцію.

По відношенню до джерел азоту мікроорганізми діляться на дві групи: аміноавтотрофи і аміногетеротрофи.

Аміноавтотрофні мікроорганізми синтезують білкові речовини за рахунок мінеральних джерел азоту або найпростіших форм органічного азоту типу сечовини. Найбільш доступними джерелом азоту для таких мікроорганізмів є амонійні солі, менш доступний – вільний аміак і нітрати. Вільний аміак створює в середовищі підвищену лужність, а нітрати, перед тим, як включитися в органічну речовину, повинні бути попередньо відновлені до аміаку. Найбільш активно нітрати використовуються пліснявими грибами, актиноміцетами і менш активно – бактеріями.

Нітрати для більшості мікроорганізмів отруйні. Вони використовуються лише специфічними групами мікроорганізмів за умови, що їх концентрація в середовищі зовсім не велика.

Менш доступний для більшості мікроорганізмів атмосферний азот.

Однак окремі групи азотфіксуючих мікроорганізмів мають спеціальний ферментний комплекс з допомогою якого інертні молекули азоту перетворюються на аміак. Цей процес потребує значних витрат енергії.

Аміногетеротрофні мікроорганізми синтезують білки із готових амінокислот. При цьому бактерії за допомогою ферментів, які вони виділяють в середовище, попередньо гідролізують білки до амінокислот. Серед аміногетеротрофів виділяють мікроорганізми, які для побудови білків свого тіла використовують амінокислоти живих клітин. Такі мікроорганізми відносять до амінопаратрофів (паразитів).

Враховуючи три критерії виділяють 8 груп мікроорганізмів, що різняться за типом живлення

Джерело енергії	Джерело електронів	Джерело вуглецю	Група мікроорганізмів
Світло	Неорганічні сполуки	CO ₂	Фотолітоавтотрофи
Світло	Неорганічні сполуки	Органічні сполуки	Фотолітогетеротрофи
світло	Органічні сполуки	CO ₂	Фотоорганавтотрофи
Світло	Органічні сполуки	Органічні сполуки	фотоорганогетеротрофи
Хімічні реакції	Неорганічні сполуки	CO ₂	Хемолітоавтотрофи
Хімічні реакції	Неорганічні сполуки	Органічні сполуки	Хемолітогетеротрофи
Хімічні реакції	Органічні сполуки	CO ₂	Хеморганавтотрофи
Хімічні реакції	Органічні сполуки	Органічні сполуки	Хемоорганогетеротрофи

ЛЕКЦІЯ 6

Тема 6. Мікроорганізми і навколишнє середовище

1. Фактори середовища, що мають вплив на мікроорганізми.
2. Фізичні фактори.
3. Хімічні фактори.
4. Біологічні фактори.
5. Методи зберігання харчових продуктів з використанням факторів зовнішнього середовища

1. Фактори середовища, що мають вплив на мікроорганізми

Умови довкілля мають велике значення для життєдіяльності мікроорганізмів. Чим сприятливіші вони, тим інтенсивніше розвиваються мікроби, і навпаки. Надлишок або брак вологи, низька або висока температура, освітлення, радіоактивне випромінювання, наявність поживних речовин тощо зумовлюють відповідний темп розвитку мікробної клітини. Розвиваючись у певних умовах довкілля прокаріоти пристосовуються до них. Цим і пояснюється той факт, що в південних широтах бактерії можуть добре розвиватися при підвищеній температурі, у північних – при пониженій, галофільні мікроорганізми – у водоймищах з високим вмістом солей.

Усі чинники зовнішнього середовища, які впливають на розвиток прокаріотів, можна розподілити на три основні групи: фізичні, хімічні і біологічні. До фізичних факторів належать: волога, температура, концентрація розчинених речовин, світло та інші форми променевої енергії, радіохвилі, ультразвук. Серед хімічних чинників розрізняють рН середовища, отруйні речовини, кисень тощо. До біологічних належать різного типу взаємозв'язки і взаємовідношення між бактеріями, а також між ними та іншими організмами довкілля (симбіоз, метабіоз, коменсалізм, синергізм, антагонізм, паразитизм тощо).

Успішна боротьба з мікроорганізмами й ефективне використання їх у виробничих процесах можливі за умов розуміння їх взаємодії із зовнішнім середовищем. Застосовуючи мікроорганізми для виробництва харчових продуктів, недостатньо тільки вибрати активні культури, необхідно створити оптимальні умови для їхнього розвитку. Регулюючи умови існування, можна не тільки керувати життєдіяльністю мікроорганізмів, але й викликати бажані їх зміни.

2. Фізичні фактори

Волога. Активна життєдіяльність бактерій можлива лише в умовах достатнього зволоження. Надходження поживних речовин у клітину та виділення продуктів обміну в зовнішнє середовище можливі тільки при достатньому вмісті води. Найменша кількість води, при якій ще можливий розвиток прокаріотів, становить 20-30 % загальної маси організму. Менш вимогливі до умов зволоження цвілеві гриби. Вони можуть розвиватися навіть

тоді, коли вміст вологи в субстраті дорівнює 10-15 %.

За мінімальною потребою у волозі розрізняють:

гідрофіти – мікроорганізми, що розвиваються при відносній вологості середовища 96-98% (до них відноситься більшість бактерій);

мезофіти – мікроорганізми, які живуть при вологості середовища 92-94% (це більшість грибів і дріжджів);

ксерофіти – мікроорганізми, що потребують не більше 90% вологості (до них відносять деякі гриби).

Для любого продукту важливий абсолютний вміст вологи, який визначають висушуванням продукту до постійної маси і виражають у відсотках. Знання цього показника важливо для оцінювання якості продукту. Вода може знаходитися у міжклітинному просторі у вигляді вільної води або бути зв'язаною з білком.

Активна вода у харчовому продукті – це частина загальної води, яка не зв'язана з розчиненими солями, цукром, білками та іншими водорозчинними речовинами. Активна вода виражає ту кількість води, яка може бути використана при фізичних, хімічних і мікробіологічних змінах. Вона знаходиться в тісному зв'язку з відносною вологістю повітря називається ще активністю води (a_w). Активність води показує відношення тиску водяних парів розчину (субстрату) P і чистого розчинника (води) P_0 при одній і тій температурі: $a_w = P/P_0 = 1$. Активність води виражається величинами від 0 до 1: $a_w = 0$ і вказує на те, що продукт зневоднений, $a_w = 1$ є показником дистильованої води.

Ріст мікроорганізмів відбувається при значеннях a_w від 1 до 0,16...0,65. Оптимальне значення a_w для бактерій 0,98...0,99. Приблизно в таких же межах знаходиться a_w швидкопсувних продуктів: м'яса, риби, плодів і овочів. Наразі відомо багато мікроорганізмів – збудників псування харчових продуктів, для яких визначено значення a_w .

Перспективним способом продовження терміну придатності харчових продуктів є створення в них таких значень a_w , при яких мікроорганізми не розвиваються. Цього можна досягнути наступними шляхами. По-перше, при виробництві харчових продуктів можна додати до них речовини, які здатні зв'язувати воду продукту, не справляючи впливу на його якість. По-друге, висушити (вилучити воду) продукт. Таким способом користуються з давніх давен (сушать фрукти, виноград, овочі, зелень).

Сухі фрукти містять багато різних мікроорганізмів, так як багато з них добре переносять висушування, серед них можуть бути і патогенні мікроорганізми. В сухих продуктах може бути велика кількість спор бактерій і грибів, які зберігають життєздатність до проростання протягом десятків років. Зволоження сухих продуктів в період зберігання викликає розвиток мікроорганізмів і, як наслідок, псування продуктів.

Для збереження сухих продуктів велике значення має відносна вологість і температура повітря. Сухі продукти гігроскопічні і можуть як віддавати, так

і поглинати воду з повітря. Між вологістю повітря і вологістю продукту встановлюється певна рухома рівновага. При одній і тій же відносній вологості повітря різні продукти можуть мати різну вологість, тобто вологість, яка встановлюється при даній відносній вологості повітря.

Величина відносної вологості повітря при одному і тому ж вмісті в ньому вологи змінюється залежно від температури: із зниженням температури повітря зменшується його вологоздатність і навпаки. Тому при зниженні температури в процесі зберігання продуктів кількість водяних парів в повітрі може виявитися надлишковою, тобто вища межі його насичення. Надлишок водяних парів будуть осідати у вигляді крапель на поверхні продукту, що призведе до розвитку мікроорганізмів.

При зберіганні та транспортуванні сухих харчових продуктів необхідно приймати міри для попередження зміни їх вологості, тобто дотримуватись встановленого режиму зберігання і пакування сухих продуктів в спеціальну тару. Це збереже продукцію ще від попадання мікроорганізмів ззовні.

Сублимаційна сушка (висушування в вакуумі продуктів в замороженому вигляді) продуктів сприяє кращому зберіганню їх якості: краще зберігаються вітаміни, смакові якості. Однак необхідно пам'ятати, що мікроорганізми добре витримують і таке висушування, зберігають життєздатність при багаторічному зберіганні сублимаційно висушених харчових продуктів.

Температура. Мікроорганізми не регулюють температуру свого тіла, а тому існування їх визначається температурою оточуючого середовища. Розрізняють три основні температурні зони, які мають вирішальне значення для розвитку бактерій: мінімум, оптимум і максимум. Найменша температура, при якій можуть розвиватися дані мікроби, називається мінімальною. Найвища температура, при якій ці самі організми ще можуть жити, називається максимальною. Між двома крайніми точками є температура, при якій прокаріоти розвиваються найкраще. Така температура дістала назву оптимальної. Кардинальні температурні точки для деяких мікроорганізмів наведено в табл. 1. Ці точки, хоча і є характерними для кожного виду мікроба, але вони можуть змінюватися під впливом інших чинників зовнішнього середовища.

Максимальна температура – це та, вище якої ріст неможливий, бактерії переходять в стан анабіозу, а потім – абіозу.

Щодо температурних умов, усі мікроорганізми прийнято поділяти на три групи: *психрофіли, мезофіли, термофіли*.

Психрофіли – холодолюбні мікроби. Психрофіли живуть у ґрунтах полярних країн, холодних морях і океанах, льодах, на заморожених продуктах тощо.

Мезофіли – мікроорганізми, мінімальні температури для яких перебувають у межах від 0 до 10°C, оптимальні – близько 25-35°C, максимальні – 40-50°C. До них належать більшість сапрофітних і патогенних мікроорганізмів, наприклад, кишкова паличка, протей, стафілокок та інші.

Таблиця 1 - Температурний режим мікроорганізмів

	min	opt	max
психрофіли	-7	10	20
мезофіли	10	30	45
термофіли	40	60	75

Термофіли – група теплолюбних мікробів, які можуть розвиватися при відносно високих температурах.

Зниження температури нижче оптимальної не так згубно впливає на прокаріотів, як її підвищення понад максимальну. На згубний вплив високих температур засновані багато прийомів знищення мікроорганізмів у харчових продуктах: кип'ятіння, варіння, обсмажування, бланшування. Виробничі обладнання харчових виробництв пропарюють. У харчовій промисловості використовують два способи впливу високих температур на мікроорганізми: пастеризацію і стерилізацію.

Пастеризація - це нагрівання продукту до 63-80°C, тривалість процесу залежить від температури і звичайно складає 20-40 хв. Іноді пастеризують при температурі 90-100°C протягом декількох секунд. При пастеризації гинуть не всі мікроорганізми. Деякі термостійкі бактерії, а також спори багатьох бактерій залишаються живими. У зв'язку з цим пастеризовані продукти варто охолоджувати до температури не вище 10°C і зберігати на холоді, щоб затримати проростання спор і розвиток збережених клітин. Пастеризують молоко, пиво, ікру, фруктові соки і деякі інші продукти.

Стерилізація - це нагрівання при температурах вище 100°C протягом певного часу, при якому відбувається загибель вегетативних клітин мікроорганізмів і їхніх спор. Стерилізації піддають різні банкові консерви, багато предметів і матеріалів, які використовуються в медичній і мікробіологічній практиці.

Повна або часткова стерилізація здійснюється за допомогою вологого і сухого жару, фільтрації, опромінення та ін.

При використанні вологого жару вегетативні клітини бактерій і грибів гинуть через 5...10 хв при температурі 60°C, для загибелі спор дріжджів і грибів необхідна температура 120°C протягом 15 хв. Для досягнення температури вище точки кипіння води користуються автоклавом, в якому температура насиченої пари залежить від тиску. Тривалість стерилізації залежить від теплоємності посудин, в яких проводиться стерилізація.

Можна досягнути тих же результатів при повторній стерилізації (тендалізації) в текучій парі при 100°C протягом трьох днів підряд по 30 хв щоденно. В проміжках між нагріванням продукт зберігають в термостаті для того, щоб спори проросли, а далі вегетативні клітини були знищені при наступному нагріванні.

При стерилізації сухим жаром бактеріальні спори переносять більш високі температури і протягом більш довгого часу. Складний посуд

стерилізують сухим жаром протягом 2 год при 160°C. Знищення мікроорганізмів жаром засноване на коагуляції клітинних білків.

Фільтрацією найзручніше стерилізувати розчини, що містять термолабільні речовини. В лабораторії Пастера вперше були використані свічки Шамберлана (неглазуровані порцелянові циліндри). В даний час в лабораторіях і для стерилізації питної води використовують фільтр Беркефельда з пресованого кизельгуру. Використовуються також азбестові платівки і фільтри Зейтца. Складні і мембранні фільтри, а також деякі фільтрувальні матеріали випускаються з різною величиною порів, що дозволяє розділяти мікроорганізми різної величини і форми.

Опромінення використовують для повної або часткової стерилізації. У цьому випадку застосовують ультрафіолетові, рентгенівські промені. У лабораторних умовах найбільше значення мають ультрафіолетові промені (УФ випромінювання). У випромінюванні більшості ультрафіолетових ламп переважають промені з довжиною хвилі близько 260 нм, які поглинаються переважно нуклеїновими кислотами. При тривалому впливі ці промені викликають загибель всіх мікроорганізмів.

УФ-випромінювання використовується для стерилізації приміщень. При цьому бактерії гинуть дуже швидко, а спори грибів, які являються менш чутливими до ультрафіолету, – значно повільніше, або зовсім не гинуть.

Дія на мікроорганізми низької температури. Більшість мікроорганізмів не може розвиватися при температурі нижче 0°C. Наприклад, гнилісні бактерії і бактерії, що викликають харчові отруєння, не розмножуються при температурі нижче 4... 5, гриби – 3...5 °C. Патогенні мікроорганізми не розмножуються вже за 10°C. Проте багато мікроорганізмів можуть досить довго зберігати життєздатність при зниженій температурі, переходячи у анабіозний стан, тобто стан "прихованого життя", подібно зимовій сплячці тварин, знову оживаючи при підвищенні температури

Низькі температури мікроби витримують порівняно легко. Наприклад, деякі види бактерій не втрачають життєздатності навіть при температурі рідкого водню (- 253°C). При дії низьких температур прокаріоти можуть впадати в анабіотичний стан, зберігаючи тривалий час свою життєдіяльність. Низькі температури широко використовуються для зберігання різних продуктів, які швидко псуються. Використовують два способи зберігання продуктів на холоді: в охолодженому стані при температурі від 10 °C до -2 °C і в замороженому стані при температурі від -12 до -30 °C.

Термостійкість мікроорганізмів характеризує відношення до температур, що перевищують максимальну для їх розвитку. Загибель настає не миттєво, а протягом певного часу. Температури, які ненабагато перевищують максимальну, викликають явище «теплого шоку». При тривалому перебуванні в такому стані клітини можуть реактивуватися, при тривалому – настає їх відмирання. Більшість безспорових бактерій відмирають при нагріванні у вологому стані до 60-70°C протягом 15-30 хв, а при нагріванні до

80-100°C – від декількох секунд до 1-2 хв.

Холодостійкість мікроорганізмів характеризує їх відношення до впливу низьких температур. При температурі середовища нижче оптимальної зменшується швидкість розмноження мікроорганізмів та інтенсивність їх життєвих процесів. Механізм дії низької температури на мікробну клітину полягає у гальмуванні в ній процесів метаболізму, припиненні росту і розмноження та переході мікроба в стан анабіозу. На цьому принципі засноване використання холодильників, льохів і льодовиків для зберігання харчових продуктів.

Випромінювання. Пряме сонячне світло шкідливо впливає на більшість видів бактерій. Тільки фототрофні мікроорганізми витримують вплив сонячної радіації порівняно легко. Вплив різних видів випромінювання на прокаріотів залежить від довжини хвилі, а також інтенсивності і тривалості випромінювання. Променева енергія поширюється в просторі у вигляді електромагнітних хвиль. Це можуть бути радіохвилі, видимі, інфрачервоні й ультрафіолетові світлові промені, іонізуючі промені – рентгенівські і космічні промені, а також випромінювання, які виникають при ядерних реакціях.

Найбільшою довжиною характеризуються радіохвилі. Вони не викликають біологічного ефекту. Дещо меншу довжину хвилі мають інфрачервоні промені. При поглинанні живим організмом вони перетворюються на тепло. Видиме світло, з довжиною хвилі від 300 до 800 нм, поглинається фотосинтезуючими прокаріотами і перетворюється на хімічну енергію. Цей вид випромінювання індукує такі процеси у прокаріотів, як фотосинтез, фототаксис, фотореактивацію ДНК тощо.

Найбільш згубними для бактерій є короткохвильові промені, наприклад, ультрафіолетові (УФ) з довжиною хвилі 250-260 нм. Вони поглинаються ДНК, РНК і білками та зумовлюють зміни їхніх молекул, що призводить до пошкодження клітини. УФ-промені викликають також мутагенний ефект, спричиняючи спадкові зміни прокаріотів, а тому їх часто використовують для одержання мутантів різних мікроорганізмів. Штучні джерела УФ-променів – бактерицидні лампи – широко використовують для дезінфекції повітря, холодильних камер, лікувальних і виробничих приміщень тощо.

Ультразвук. Ультразвукові хвилі мають частоту коливання понад 16 000 Гц. Вони виявляють згубну дію на різні мікроорганізми: зумовлюють розпад високомолекулярних сполук, коагуляцію білка, інактивують ферменти, токсини, спричиняють розрив клітинної стінки тощо. Досі ще не розкрито механізм дії ультразвукових хвиль. Його зв'язують з кавітацією, тобто утворенням у рідині порожнин, при закритті яких виникають гідравлічні удари, що руйнують клітини мікроорганізмів.

До дії ультразвуку чутливі (різною мірою) всі прокаріоти. Наприклад, до дуже чутливих належать протей, сальмонели, сирна паличка та інші, до дуже стійких – туберкульозна паличка та багато інших прокаріотів. Дія електрогідравлічного ефекту на живі об'єкти за допомогою спеціальних

установок відкрило широкі можливості для практичного використання електрогідравлічного ефекту при стерилізації молока, соків та інших харчових продуктів, виробництві вбитих вакцин, одержанні внутрішньоцитоплазматичного білка різних видів мікробів, а також для стерилізації питної і стічних вод.

Осмотичний тиск. Важливе значення для життя прокаріотів має осмотичний тиск, величина якого визначається концентрацією розчинених речовин у середовищі. Цитоплазматична мембрана бактеріальної клітини регулює проникнення в клітину і вихід із неї води і розчинених речовин, зберігаючи при цьому осмотичну рівновагу. Надходження води з довкілля у клітину можливе лише в тому випадку, коли осмотичний тиск в клітині буде більшим, ніж тиск зовнішнього розчину. В природних умовах сумарний осмотичний тиск у зовнішньому середовищі звичайно дещо нижчий, ніж у мікробній клітині. Це забезпечує приплив води до клітини. Вода, що надходить до мікробної клітини, притискає цитоплазму та цитоплазматичну мембрану до клітинної стінки, створюючи внутрішній тиск або *тургор*, який перешкоджає подальшому проникненню води. В нормальному стані мікробна клітина має певний тургорний тиск, при якому вона проявляє найбільшу активність. Тургорний тиск може дорівнювати 3-8 атм або сягати кількох десятків чи навіть сотень атмосфер.

При високому осмотичному тиску в середовищі клітина втрачає здатність поглинати з нього воду, що згубно діє на неї. Тургор клітини порушується, протопласт зморщується та відходить від клітинної стінки. Це явище називається *плазмолізм* клітини.

Якщо осмотичний тиск у зовнішньому середовищі значно нижчий, ніж у клітині, відбувається *плазмолитиз* клітини – цитоплазма переповнюється водою, що може призвести до розриву клітинної оболонки. Як плазмоліз, так і плазмолитиз є шкідливими процесами, оскільки викликають незворотні процеси, що можуть призвести до загибелі мікробної клітини.

Нормальний осмотичний тиск у клітині визначається в межах від 3 до 7 атм.

Гідростатичний тиск. Прокаріоти по-різному реагують на дію гідростатичного тиску. Наприклад морські бактерії, що мешкають на глибині 1000-10 000 м, можуть витримувати тиск до 900 атм. Деякі бактерії, дріжджі, цвільові гриби витримують тиск до 3000 атм, а фітопатогенні віруси – до 5000 атм. Бактерії, які ростуть при звичайному та підвищеному тиску, називають баротолерантними.

Мікроорганізми, що краще розвиваються при високому тиску, належать до барофільних організмів. Під дією гідростатичного тиску змінюються активність ферментів і біохімічні властивості бактерій.

3. Хімічні фактори

Хімічний склад середовища істотно впливає наріст і розвиток

прокаріотів. Від нього залежить надходження поживних речовин, і він визначає реакцію середовища, її окислювально-відновний потенціал.

Реакція середовища (pH). Визначається концентрацією водневих (H^+) і гідроксильних (OH^-) іонів у водному розчині. Для кількісної характеристики реакції середовища вводять величину pH – водневий показник, який характеризує ступінь його кислотності (pH від 7 до 1) або лужності (pH від 7 до 14). Реакція середовища є одним з важливих факторів, який визначає розвиток бактерій.

Ступінь кислотності або лужності середовища справляє великий вплив на життя мікроорганізмів. Фізіологічне діючою основою в кислих і лужних субстратах є концентрація гідроксильних і водневих іонів (OH^- і H^+). До найбільш кислих природних середовищ належать гарячі кислі джерела і їхні ґрунти, pH у них іноді може сягати 1. З цих місць виділено бактерії, які водночас є ацидофілами і термофілами. У природі також трапляються такі лужні джерела і озера, pH яких може сягати 8-11. З них виділено бактерії, які можуть добре рости при pH = 8- 10 (ціанобактерії та інші).

Всі мікроорганізми за їх відношенням до кислотності середовища можуть бути розподілені на кілька груп.

Нейтрофіли, для яких діапазон оптимального значення pH складає 6,5-7,5. Серед цієї групи багато бактерій здатні виявляти кислототолерантність чи луготолерантність і розвиватися в широкому діапазоні pH – від 4 до 9. До кислототолерантів відносяться бактерії, які накопичують органічні кислоти в процесі метаболізму клітини – молочнокислі, оцтовокислі, пропіоновокислі та інші. Прикладом луготолерантних мікроорганізмів є амоніфікуючі, нітрифікуючі бактерії, бактерії роду азотобактер, ентеробактерії і тощо.

Ацидофіли, які розвиваються в кислому середовищі зі значенням pH 2-3. До помірних ацидофілів відносяться бактерії, які живуть у воді кислих боліт і озер, а також у кислих ґрунтах при pH 3-4. Крайні ацидофіли виділяються з териконів вугільних шахт і гарячих кислих джерел. Прикладом крайніх ацидофілів є бактерії родів *Thiobacillus* і *Sulfomonas*, а також *Thermoplasmaacidophila*.

Алкалофіли складають протилежну ацидофільним мікроорганізмам групу, для яких оптимальним діапазоном pH є лужне середовище від 9 і вище. До алкалофільних бактерій відносяться представники роду *Bacillus* і *Vibrio cholerae* (холерний вібріон), розмноження якого активізується при pH вище 9.

Більшість бактерій краще розвиваються в нейтральному або слаболужному середовищі. Добре витримують кислотність оцтовокислі, молочнокислі та деякі інші види бактерій. Дуже чутливі до високої кислотності гнильні бактерії. Мікроорганізми, які добре розвиваються в лужному середовищі, дістали назву алкалофільних. Наприклад холерний вібріон добре розмножується при pH = 9. Прокаріоти, які краще ростуть у кислому середовищі, називаються ацидофільними. На вивченні ставлення різних

мікробів до рН середовища ґрунтується низка важливих практичних заходів щодо зберігання деяких харчових продуктів у квашеному й маринованому вигляді.

Хімічні речовини. Залежно від хімічного складу, концентрації, температури, тривалості дії, виду прокаріотів хімічні речовини можуть чинити на мікроорганізми стимулюючу, бактеріостатичну (пригнічуючу) і бактерицидну дію. Речовини, які діють на мікроби токсично, називають антисептиками, їх дуже широко використовують проти різних шкідливих мікроорганізмів.

За характером дії хімічні речовини поділяють на кілька груп:

а) поверхнево-активні речовини — жирні кислоти, мила, інші ПАР; ці речовини найчастіше пошкоджують клітинну стінку;

б) етанол, крезол, фенол та їхні похідні не тільки пошкоджують оболонку, а й діють руйнівні на білки цитоплазми;

в) барвники — актифлавін, реванол та інші — діють на ДНК і РНК, порушують цитокінез;

г) формалін спричинює денатурацію білків, згубно діє на вегетативні клітини і спори;

д) солі важких металів (мідь, срібло, свинець, цинк, ртуть та інші).

Бактерицидна дія важких металів може бути проілюстрована на прикладі срібла. Концентрація солей срібла в розведенні 1:100000 згубно діє на різні види мікробів. У садівництві, наприклад, розчини солей міді, цинку й заліза застосовують для сприскування плодових дерев при зараженні їх бактеріальними і грибовими хворобами.

Окислювачі (хлор, пероксид водню, йод, перманганат калію та інші) широко використовують для дезинфекції питної води, в медицині, сільському господарстві тощо.

Кисень. Трапляється в природі як у вільному, так і в зв'язаному стані; є обов'язковим компонентом будь-якої клітини. Переважна більшість живих організмів використовують обидві форми кисню. За відношенням до молекулярного кисню серед мікроорганізмів розрізняють:

Облігатні аероби. У клітинах облігатних аеробів молекулярний кисень витрачається на процеси дихання як кінцевий акцептор водню, менша частина його включається в молекули різних сполук.

Облігатні анаероби. Дещо менша група прокаріотів, для життєдіяльності яких молекулярний кисень не потрібний. До них відносяться маслянокислі, метаноутворюючі, сульфатвідновлюючі і деякі інші бактерії. В клітинах облігатних анаеробів окислення субстрату відбувається без участі кисню. Серед бактерій цієї групи є мікроорганізми, нездатні жити навіть при незначній концентрації молекулярного кисню в середовищі. До них відносяться представники родів *Methanobacterium*, *Methanosarcina* тощо.

Факультативні анаероби або факультативні аероби. Здатні рости як в аеробних, так і в анаеробних умовах і переключати свій енергетичний

метаболізм з одного способу одержання енергії на інший. Прикладом факультативних анаеробів є денітрифікуючі бактерії, більшість дріжджів, а також велика група ентеробактерій.

Мікроаерофіли. Для них молекулярний кисень необхідний у незначних кількостях – не більше 2%.

4. Біологічні фактори

Антибіотики. Ці речовини належать до вторинних метаболітів, їх біосинтез не зв'язаний з ростом мікроорганізмів і вони не є життєво необхідними. Вони утворюються тільки при певних умовах для забезпечення їх продуцентів в умовах конкуренції. Деякі з них можуть виконувати низку фізіологічних функцій в організмі.

Фітонциди. Фітонциди – біологічно активні речовини, які виділяються рослинами і характеризуються бактерицидними, фунгіцидними і протистоксичними властивостями. Практично майже кожній рослині притаманні фітонцидні властивості, але не однаковою мірою. Найактивнішою бактерицидною дією характеризуються цибуля, часник, гірчиця, хрін, алое, кропива, полин, черемха, горіх, евкаліпт, цитрусові тощо. До складу фітонцидів входять альдегіди, алкалоїди, глікозиди, синильна кислота, хінони і ефірні олії тощо. Серед названих сполук надзвичайно високою антимікробною активністю володіють алкалоїди (анабазин, нікотин, хінін та ін.).

Симбіоз. Симбіотичні відносини мікроорганізмів характеризуються тим, що два види мікробів або більше у спільному розвитку створюють для себе взаємовигідні умови. Так, в кефірних зернах одночасно розвиваються молочнокислі бактерії і дріжджі, створюючи при цьому взаємовигідні умови: молочнокислі бактерії (лактобацили, стрептококи, мікрококи) отримують від дріжджів вітаміни, а дріжджі завдяки підкисленню середовища молочнокислими бактеріями знаходять сприятливі умови для свого розвитку. Приблизно те ж саме відбувається в «чайному грибі», де спільно розвиваються кілька видів оцтовокислих бактерій і дріжджі.

Метабіоз. При метабіозі продукти життєдіяльності одного мікроорганізму, містять в собі ще значну кількість енергії, споживаються іншими мікроорганізмами як поживний матеріал. Це має місце при послідовному використанні якого-небудь одного складного субстрату. Наприклад, при використанні білкових речовин послідовно в цьому процесі можуть брати участь амоніфікатори, нітрифікатори, денітрифікатори. Ті ж процеси відбуваються в харчових продуктах при їх мікробному псуванні.

Комменсалізм. При комменсалізмі взаємна користь від спільного співжиття мікроорганізмів чітко не виражена, але і не приносить шкоди. Класичний приклад комменсалізма – нормальна мікрофлора шлунково-кишкового тракту людини.

Паразитизм. Паразитизм характеризує таку форму взаємин, при якій

розвиток деяких мікробів відбувається за рахунок речовин тіла (клітини) інших організмів. Бактерії-паразити у своєму еволюційному розвитку втратили здатність синтезувати багато речовини; вони отримують їх в готовому вигляді за рахунок свого господаря. "Господар" ж ніякої користі від такого співжиття не отримує. Внутрішньоклітинними паразитами є бактерії, а внутрішньоклітинними – рикетсії і фаги віруси.

Антагонізм. У природних умовах розвитку мікробів досить часто спостерігаються явища, при яких один вид мікроорганізмів тим або іншим способом пригнічує або повністю пригнічує ріст і розвиток інших видів. Це явище поширене серед бактерій, актиноміцетів, грибів та інших організмів.

Розглянуті типи взаємин, існуючі в світі мікроорганізмів, не вичерпують все те різноманіття зв'язків, яке існує серед мікроорганізмів як у природі, так і на харчових продуктах. На різних етапах росту мікроорганізмів залежно від умов їхнього розвитку один тип взаємин може змінюватися іншим, взаємодіючи мікроби в одному типі можуть мінятися місцями. Все це свідчить про наявність досить складного і різноманітного характеру взаємин організмів, які перебувають у природних місцях проживання, в тому числі і на харчових продуктах.

5. Методи зберігання харчових продуктів з використанням факторів зовнішнього середовища

Харчові продукти є хорошим поживним середовищем для багатьох мікроорганізмів, які, розвиваючись на ньому, викликають псування. Неправильні способи заготівлі, перевезення, переробки, зберігання та реалізації харчових продуктів призводять до їх псування і великих втрат. Розвиток мікроорганізмів залежить як від наявності поживних речовин, так і від інших факторів. Змінюючи умови зберігання харчових продуктів, можна регулювати розвиток мікроорганізмів і їх біохімічну діяльність. Рациональне зберігання харчових продуктів має не менше значення, чим їх виробництво. Всі методи зберігання харчових продуктів запропоновано підрозділити залежно від принципу зберігання на чотири групи.

Перша група – методи зберігання, в основу яких покладено принцип біос (життя). Ці методи спрямовані на підтримку життєвих процесів на пониженому рівні, але зі збереженням природного імунітету. На цьому принципі засновано зберігання плодів і овочів у свіжому вигляді, а також зберігання живої риби.

Друга група – методи зберігання, в основу яких покладено принцип абіоза (відсутність життя). Ці методи направлені на знищення мікробів у продукті. До них відносять використання високих температур (пастеризацію і стерилізацію), додавання антисептиків, опромінення різними формами променистої енергії, застосування антибіотиків, обробку ультразвуком.

Третя група – методи зберігання, в основу яких покладено принцип анабіозу (відсутність життя). Ці методи направлені на припинення

життєдіяльності мікробів у продуктах. При цьому створюють такі умови, при яких мікроорганізми можуть зберігатися живими, але не життєздатними. До них відносять використання низьких температур (охолодження і заморожування), видалення води з продукту нижче межі, необхідної для розвитку мікробів (сушіння, в'ялення), додавання до продукту речовин (солі, цукру), що створюють високий осмотичний тиск, підвищення кислотності продукту шляхом додавання оцтової кислоти (маринування), створення анаеробних умов, що запобігають розвитку найбільш активних збудників псування – аеробних мікроорганізмів (зберігання харчових продуктів в газонепроникному пакувальному матеріалі, у вакуумній упаковці, в атмосфері азоту).

Четверта група – методи зберігання, в основу яких покладено принцип ценоанабіоза – використання антагоністичних взаємин між мікроорганізмами, що входять до складу мікрофлори харчового продукту. Ці методи викликають розвиток мікроорганізмів, які в процесі своєї життєдіяльності хоча і змінюють властивості продукту, але не тільки не псують, а навіть покращують його харчові та смакові якості. У той же час продукти життєдіяльності цих мікроорганізмів пригнічують розвиток мікробів – збудників псування. На цьому принципі засновано квашення овочів і плодів, виробництво кисломолочних продуктів.

ЛЕКЦІЯ 7

Тема 7. Біохімічні процеси, що викликаються мікроорганізмами

1. Характеристика процесу бродіння. Спиртове бродіння.
2. Молочнокисле та інші види бродіння
3. Розкладання жиру.
4. Процеси гниття.

1. Характеристика процесу бродіння в аеробних умовах

До бродіння в строгому сенсі слова відносяться ті процеси отримання енергії, при яких водень, що відщеплюється від субстрату переноситься в кінцевому рахунку на органічні акцептори. Кисень у процесах бродіння не бере участь.

Причини бродіння були встановлені ще в середині XIX в. Л. Пастером, який показав, що в аеробних умовах дріжджі утворюють з певної кількості цукру приблизно в 20 разів більше клітинного матеріалу, ніж в анаеробних. Л.Пастер називав бродіння життям без повітря. Він відкрив також, що кисень пригнічує бродіння. Цей ефект, що отримав назву ефекту Пастера, набув з тих пір популярність як один із класичних прикладів регулювання обміну речовин.

У 1896-1897 рр. було виявлено "безклітинне бродіння" – бродіння, що викликається розтертими пресованими пивними дріжджами. Це перший складний біохімічний процес, здійснений поза клітиною. Пізніше було

встановлено, що для зброджування глюкози дріжджам необхідний неорганічний фосфат.

Інакше кажучи, бродіння – процес перетворення з'єднань вуглецю як в анаеробних, так і аеробних умовах.

Спиртове бродіння. Спиртове бродіння – це процес перетворення в анаеробних умовах цукру в діоксид вуглецю та етиловий спирт:

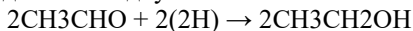


Етиловий спирт – один з широко поширених продуктів зброджування цукрів мікроорганізмами. Навіть рослини і гриби в анаеробних умовах накопичують етиловий спирт.

Під час спиртового бродіння відбувається два періоди:

1. Індукційний – оцтовий альдегід, що утворюється з півовиноградної кислоти, не використовується в якості акцептора водню. Внаслідок цього в середовищі накопичується гліцерин, оцтовий альдегід та вуглекислота. Після накопичення певної кількості молекул оцтового альдегіду, реакція з використанням фосфогліцеринового альдегіду припиняється і настає друга фаза.

2. Стаціонарний період – водень акцептується оцтовим альдегідом, внаслідок чого відбувається посилене накопичення етилового спирту:

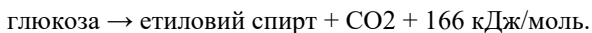


Ця реакція складає основну ланку в спиртовому бродінні

Розглянемо хімізм спиртового бродіння. Збудниками спиртового бродіння є дріжджі, які вирощують в аеробних умовах, підбираючи відповідні раси, що володіють необхідними властивостями для даного виробництва.

Процес спиртового бродіння здійснюється з тим же запасом енергії у формі АТФ і тим же ферментативним шляхом, що і гліколіз, аж до утворення півовиноградної кислоти. Перетворення півовиноградної кислоти в етиловий спирт відбувається у два етапи. Спочатку піруват (півовиноградна кислота) декарбоксилюється піруватдекарбоксилазою за участю тіамініпірофосфату до ацетальдегіду, а потім ацетальдегід відновлюється алкогольдегідрогеназою в етанол.

При цьому дріжджі отримують енергію для розвитку біохімічних процесів в клітині:



З енергетичної точки зору бродіння – процес малоефективний. Так, якщо при окисленні 1 граму молекули глюкози до CO_2 і H_2O в процесі аеробного дихання синтезується 36 моль АТФ, то в процесі спиртового бродіння – всього 2 моль АТФ.

Дріжджі можуть переключати один тип обміну речовин (аеробний) на інший (анаеробний).

Поряд з основними продуктами бродіння – етиловим спиртом і CO_2 – утворюються побічні продукти: гліцерин, оцтовий альдегід, оцтова кислота, янтарна кислота, а також так звані сивушні масла. До складу сивушних масел

входять пропанол, 2-бутанол, 2-метилпропанол, аміловий (пентанол) і ізоаміловий (триметилбутанол) спирти, що представляють собою продукти нормального бродильного метаболізму дріжджів і виявляються при рості дріжджів на будь-яких середовищах. Шляхи синтезу цих речовин ще до кінця не вивчені.

Вищі спирти беруть участь у формуванні аромату і смаку напоїв спиртового бродіння. Дріжджі здатні зброджувати крім глюкози і піровиноградну кислоту. В якості проміжного продукту при зброджуванні піровиноградної кислоти утворюється ацетальдегід; якщо до дріжджів, зброджуючим глюкозу, додати бісульфіт, то з'явиться новий продукт – гліцерин, однак при цьому знижується вихід етилового спирту і CO₂.

Бродіння в присутності бісульфіту стали використовувати в промисловості при виробництві гліцерину.

На умови спиртового бродіння впливають багато факторів: хімічний склад зброджуваного середовища, тобто його повноцінність, концентрація і кислотність середовища, вміст спирту, температура, наявність сторонніх мікроорганізмів.

Більшість дріжджів здатні зброджувати моносахариди, а з дисахаридів – сахарозу і мальтозу. Пентози зброджуються тільки деякими дріжджами. Дріжджі не можуть зброджувати крохмаль, так як вони не утворюють амілолітичних ферментів.

Найбільш сприятлива концентрація цукру в середовищі для більшості дріжджів становить 10...15%. При підвищенні концентрації цукру енергія бродіння знижується, а при 30...35% цукру бродіння зазвичай припиняється. Енергією бродіння називається здатність певної кількості дріжджів зброджувати за певний проміжок часу ту чи іншу кількість цукру. В природі зустрічаються дріжджі, здатні викликати бродіння цукру навіть при концентрації його 50...60% і вище.

Гарним джерелом азоту для більшості дріжджів є амонійні солі, але дріжджі можуть використовувати також амінокислоти і пептиди.

Бродіння зазвичай протікає в кислому середовищі при рН 4...5. У лужному середовищі в результаті бродіння утворюється гліцерин.

Найбільша швидкість бродіння спостерігається при температурі близько 30 °С; при температурі 45...50 °С бродіння припиняється в результаті загибелі клітин дріжджів. Зниження температури призводить до уповільнення бродіння, але повністю воно не припиняється навіть при температурі нижче 0 °С.

Етиловий спирт, що утворюється в процесі бродіння, несприятливо впливає на дріжджі. Накопичення дріжджами спирту в концентрації 2... 5 % в залежності від виду і раси дріжджів діє на них вже гнітюче. У більшості випадків бродіння припиняється при накопиченні дріжджами 12...14% (об'ємних) спирту. Виведені селекціонерами раси дріжджів, стійкі до накопичення 16... 18 і навіть 20 % спирту.

Використання спиртового бродіння лежить в основі виробництва

етилового спирту, пива, вина і пекарських дріжджів.

Для отримання спирту етилового використовують різну сировину трьох основних груп: що містить цукор (цукровий буряк, кормова патока, або меляса, цукрову тростину, фруктові соки); містить крохмаль (картопля, земляна груша, кукурудза, ячмінь, овес, жито, пшениця); містить целюлозу (деревина і сульфитні луги). Сировину використовують в залежності від господарських можливостей; вона повинна бути дешевою і в достатній кількості.

Крохмалевмісну сировину розварюють і піддають оцукренню. Джерелом амілолітичних ферментів служить солодове молоко, виготовляється з пророслих зерен ячменю, або ферментний препарат з грибів роду *Aspergillus*.

В солоді, крім амілаз, містяться і протеолітичні ферменти, які викликають часткове перетворення білкових речовин у розчинні азотвмісні речовини. У результаті виходить сусло, багате як цукристими речовинами, так і іншими поживними речовинами для дріжджів. Вносять і додаткові джерела живлення. Це робиться завжди за рецептом середовищ для кожного даного виробництва.

У отримане сусло вносять дріжджі, найчастіше застосовують раси *Saccharomyces cerevisiae*, які швидко розмножуються, спиртостійкі, володіють високою енергією бродіння. Є й інші промислово важливі раси дріжджів.

Після закінчення бродіння дріжджі відокремлюють від зброджених заторів, а спирт відганяють на спеціальних перегінних апаратах. Виходить спирт-сирець і залишається відхід виробництва – барда, яку використовують для отримання кормових дріжджів. Відпрацьовані дріжджі теж використовуються у вигляді рідких і сухих кормових дріжджів.

Спирт-сирець використовують як для технічних цілей, так і для подальшого очищення – ректифікації.

Мікроорганізми в спирт-сирець можуть потрапляти з повітря, сировини, апаратури. Ними можуть бути молочнокислі бактерії і дикі дріжджі, які здатні розвиватися в анаеробних умовах у присутності спирту. Вони використовують поживні речовини середовища, пригнічують дріжджі продуктами свого обміну, при цьому знижується вихід спирту.

Спирт застосовують в медицині, виробництві різних спиртових напоїв. В останні десятиліття спирт розглядають як перспективне паливо. Спирт є сировиною для хімічної промисловості.

Основною сировиною для отримання пива є ячмінний солод, який отримують з пророщених зерен ячменю (солодородження). Амілази солоду, що містяться в ньому, розщеплюють крохмаль на більш прості вуглеводи – мальтозу і декстрин, а протеази частково перетворюють білок, що міститься в ньому, в азотисті з'єднання, засвоювані дріжджами.

До солоду додають несоложений ячмінь, рис, кукурудзяне борошно, воду, хміль і отримують пивне сусло. Пивне сусло є повноцінним поживним середовищем для дріжджів. Речовини хмелю володіють антибактеріальною дією і надають пиву специфічної гіркоти і аромату.

Для отримання більшості сортів пива використовують переважно дріжджі низового бродиння (раси *Saccharomyces carlsbergensis*), для деяких сортів пива – дріжджі верхового бродиння (*Saccharomyces cerevisiae*). Бродиння, яке викликається низовими дріжджами, протікає повільно і спокійно, ведуть його при порівняно низьких температурах – від 5 до 10 °С. Газ виділяється поступово, піни утворюється менше, дріжджі не виносяться на поверхню зброджуваного середовища і швидко осідають на дно бродильних ємностей. Бродиння, яке викликається верховими дріжджами, протікає бурхливо і швидко при температурі 20...28 °С. На поверхні бродячої рідини утворюється багато піни. Під дією CO₂, що виділяється, дріжджі виносяться у верхні шари субстрату. Після закінчення бродиння дріжджі осідають на дно бродильних ємностей рихлим шаром.

Процес отримання пива йде в два етапи, тобто здійснюється два періоди бродиння – головне і доброджування.

В процесі головного бродиння при температурі від 6 до 10 °С дріжджі активно розмножуються та інтенсивно зброджують цукор. Отримують так зване зелене (незріле) пиво. Його зливають з дріжджового осаду і направляють на доброджування при температурі близько 1 °С. Дріжджі, що залишилися в зеленому пиві, майже не розмножуються і повільно зброджують цукор, що залишився. Накопичуються діоксид вуглецю, 3...6 % (по масі) етилового спирту, побічні продукти бродиння: вищі спирти, органічні кислоти, діацетил, ефіри. Всі вони беруть участь у формуванні смаку і аромату пива.

Дозріле пиво освітлюють, а дріжджі видаляють шляхом фільтрування або центрифугування і направляють на розлив. Хімічний склад та смакові властивості різних сортів пива залежать від використовуваної сировини, використаної раси дріжджів і технології виробництва.

Частину дріжджів, що осіли на дно бродильних ємностей, знову використовують для отримання пива, частину випускають у вигляді рідких або сухих пивних дріжджів в якості продукту, багатого вітамінами B1, B2, B6, PP, пантотенової кислоти, а частина йде на корм тваринам.

Для отримання вина початковою сировиною служать виноградний сік, а також плодово-ягідні соки. Всі соки є гарним поживним середовищем для різних мікроорганізмів. Для позбавлення від шкідливої мікрофлори і від диких дріжджів соки сульфітують (обробляють сірчистим ангідридом SO₂), а потім піддають бродинню. Сірчистий ангідрид грає роль як антисептика, так і антиокисника. Він пов'язує кисень, при цьому знижується окислювально-відновлювальний потенціал середовища, що перешкоджає розвитку аеробної мікрофлори і сприяє бродинню.

Бродиння соків для виготовлення вин здійснюють із застосуванням чистих культур винних дріжджів низового бродиння *S. ellipsoideus* а для вин хересного типу ще й *S. oviformis*.

Для отримання певних вин вибирають виробничі раси дріжджів, що відповідають наступним вимогам: вони повинні повністю зброджувати сусло,

бути стійкими до підвищеного вмісту цукру і спирту, до SO₂, низького рН, швидко осідати після бродіння і давати щільний осад.

Різні раси ***S. vini***, селекціоновані для визначених типів вин, мають різну температуру бродіння, утворюють різну кількість спирту (10...18%), різні побічні продукти, що відображається на смакових і ароматичних властивостях вин.

Для запобігання вин від мікробного псування їх пастеризують – вводять антисептики. (SO₂, сорбінову кислоту), обробляють ультрафіолетом, ультразвуком,

На всіх бродильних виробництвах якість і вихід готової продукції в значній мірі залежать від загального санітарного стану виробництва. На всіх підприємствах повинен підтримуватися строгий санітарний режим, а також проводиться постійний мікробіологічний контроль на всіх стадіях виробничого процесу, включаючи приміщення, тару і т.п.

2. Молочнокисле бродіння.

Молочнокисле бродіння – це процес перетворення молочнокислими бактеріями цукру в молочну кислоту в анаеробних умовах.

Молочнокислі бактерії зазвичай знаходяться в молоці і молочних продуктах, на рослинах, у кишечника людини та тварин, однак вони не зустрічаються у воді і ґрунті.

За кінцевим продуктом бродіння молочнокислі бактерії поділяють на дві групи: гомоферментативні і гетероферментативні. У зв'язку з цим існують два види молочнокислого бродіння: гомоферментативне і гетероферментативне.

Гомоферментативне молочнокисле бродіння широко застосовують при виготовленні простокваш, кумису, сквашуванні вершків, отриманні молочної кислоти, при квашенні овочів і силосуванні корму.

При гомоферментативному молочнокислому бродінні відбувається розщеплення глюкози з утворенням двох молекул молочної кислоти:

Глюкоза → молочна кислота + 197 кДж/моль.

Молочна кислота – кінцевий продукт гомоферментативного бродіння – утворюється з пірвіноградної кислоти:

Пірвіноградна кислота + 2H₂ → молочна кислота.

Якщо кількість утвореної кислоти достатня і рН сягає 4,6, відбувається згортання казеїну, тобто по мірі накопичення молочної кислоти щільність згустку збільшується.

Збудниками гомоферментативного молочнокислого бродіння є бактерії, різні за формою (кулясті і паличкоподібні) і властивостями (мезофільні і термофільні).

Типовим представником молочнокислих бактерій гомоферментативного молочнокислого бродіння є молочнокислий стрептокок – ***Lactococcus lactis***, який знаходиться майже у всіх молочних продуктах, відіграє важливу роль в сквашуванні молока і є основною складовою частиною

мікрофлори простокваш. Найчастіше він зустрічається у вигляді коротких ланцюжків і диплококків.

Lc. lactis є факультативним анаеробом, має овальну форму клітини, фарбується за Грамом позитивно, спор і капсул не утворює, має оптимальну температуру росту 30... 35°C. Через 10... 12 год під дією молочнокислого стрептококка у молоці накопичується близько 0,8... 1 % молочної кислоти, і молоко згортається. Кислотність казеїнового згустку за Тернером становить 120°T.

Молочнокислий стрептокок володіє антимікробною дією, утворює поліпептидні антибіотики – нізини, стійкі до високої температури і здатністю затримувати ріст багатьох грампозитивних мікробів, у тому числі і патогенних (*Mycobacterium tuberculosis*). Нізини застосовують в харчовій промисловості.

Вершковий стрептокок (*Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris*) являє собою довгі ланцюжки сферичних клітин. Оптимальна температура росту 25°C, мінімальна – до 10°C, максимальна – 36...38°C. Використовується у заквасок разом з молочнокислим стрептококом для виготовлення сметани, масла, сирів. Деякі штами утворюють антибіотик диплококцин.

Термофільний стрептокок (**Str. thermophilus**) утворює довгі ланцюжки коків, добре розвивається при температурі 40... 45 °C. Утворює близько 1 % молочної кислоти. Використовується разом з іншими паличкоподібними бактеріями для отримання ряжанки, простокваші "Південна".

Болгарська паличка (**Lactobacillus bulgariucus**) являє собою великі палички, що часто утворюють довгі ланцюжки. Оптимальна температура росту +40...+45°C, мінімальна – 15... 20 °C. Є активним кислотоутворювачем, виділяє в молоці 2,5...3,5% молочної кислоти. Використовується при виготовленні простокваші "Південна", кумису. Є антагоністом гнилісної мікрофлори. Для зменшення гнилісної мікрофлори необхідно систематичне надходження болгарської палички в організм.

Ацидофільна паличка (**Lb. acidophilus**) є постійним супутником шлунковокишкового тракту молодняку сільськогосподарських тварин, звідки вона і виділяється. Вперше вона була виявлена у фекаліях дитини. Оптимальна температура росту 37...40°C, мінімальна – близько 20 °C. При сквашуванні в молоці накопичується до 2,2 % молочної кислоти. Деякі види мають здатність утворювати слиз. Використовується у виробництві ацидофільних молочнокислих продуктів, утворює антибіотичні речовини, нейтралізує отруйні продукти життєдіяльності гнильних мікроорганізмів.

Молочнокисла паличка (**Lb. plantarum**) – паличкоподібні невеликі поодинокі клітини, зчеплені попарно або ланцюжком. Оптимальна температура росту становить 30 °C. При сквашуванні молока утворюється до 1,3 % молочної кислоти. Молочнокисла паличка є основним збудником бродіння при квашенні овочів і силосуванні кормів.

Гетероферментативне молочнокисле бродіння здійснюють гетероферментативні молочнокислі бактерії, крім молочної кислоти

утворюють етиловий спирт, CO₂, оцтову кислоту, ацетоїн і діацетіл.

До гетероферментативних молочнокислих бактерій відносяться гетероферментативні молочнокислі стрептококи, характеристика яких наведена нижче.

Ароматоутворюючі (*Lc.lactis subsp. lactis biovar diacetilactis*, *Lb. brevis*) надають кисло-молочним продуктам приємні смак і аромат. Для приготування молочнокислих продуктів ароматоутворюючі стрептококи з'єднують з гомоферментативними – молочнокислим і вершковим. Вони мають майже однакову температуру росту (30°C). Серед гетероферментативних молочнокислих бактерій є і термофіли – *S. thermophilus*, які розмножуються при температурі 45°C, що дозволяє використовувати їх з термофільними молочнокислими паличками при виробництві простокваші і таких сирів, як "Російський" і "Швейцарський".

До гетероферментативних молочнокислих стрептококів відноситься рід *Leuconostoc*. Бактерії, що відносяться до цього роду, являють собою подовжені коки, які можуть бути поодинокими, парними, у вигляді коротких ланцюжків. При бродінні вони утворюють діацетіл. Оптимальна температура росту 20...25°C. Лейконосток вводять в закваски для ароматизації продукту.

Деякі види *Leuconostoc* є активними слизеутворювачами, виділяючими багато полісахариду декстрину густої слизової консистенції.

Використання молочнокислого бродіння пов'язано з антагоністичною і консервуючою дією молочнокислих бактерій. У поживному середовищі вони знижують рН до значень менше 5 і тим самим пригнічують ріст інших анаеробних бактерій, які не можуть розвиватися в настільки кислому середовищі. Молочнокисле бродіння використовують в сільському господарстві, в молочній промисловості, а також при різних заготовках у домашніх умовах.

Велике значення молочнокислі бактерії мають при квашенні овочів, зокрема при приготуванні квашеної (кислої) капусти. У дрібно нарізаній, посипаній сіллю (2...3 %) і спресованій білокачанній капусті при виключенні доступу повітря починається спонтанне молочнокисле бродіння, в якому беруть участь спочатку *Leuconostoc* (з утворенням CO₂), а пізніше *Lactobacillus plantarum*.

Процес квашення овочів має кілька періодів.

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

Середній – розвиваються тільки молочнокислі бактерії і накопичується молочна кислота.

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

Квашені овочі треба зберігати без доступу повітря, бо інакше на розсолі розвивається грибок *Oidium lactis*, який зменшує концентрацію молочної

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

Молочнокисле бродіння використовують при приготуванні силосу – корму для худоби. Для цього застосовують листя цукрових буряків, кукурудзу, картоплю, люцерну, трави. Рослинну масу пресують, додають до неї мелясу, щоб підвищити співвідношення C/N, і яку-небудь органічну кислоту, щоб заздалегідь забезпечити переважний ріст лактобацил і стрептококів. В результаті отримують чудовий корм для тварин.

Особливо велика роль молочнокислих бактерій в молочній промисловості для отримання великого асортименту молочнокислих продуктів: кислого молока, сметани, сиру, йогурту, кефіру, кумису та ін.

Молочну кислоту використовують в консервній, кондитерській промисловості, у виробництві безалкогольних напоїв як консервант.

Однак треба пам'ятати, що молочнокисле бродіння, яке спонтанно виникає в продуктах (молоці, вині, пиві, безалкогольних напоях) призводить до їх псування: прокисання, помутніння, ослизнення та ін.

Пропіоновокисле бродіння. Пропіоновокисле бродіння – це перетворення цукру або молочної кислоти та її солей в пропіонову і оцтову кислоти з виділенням CO₂ і H₂O в анаеробних умовах.

Пропіоновокислі бактерії мешкають в рубці і кишечнику жуйних тварин (корів, овець), утворюючи там пропіонову і оцтову кислоти. Пропіонові бактерії не зустрічаються в молоці, їх не вдається виділити з ґрунту і природних вод. Для отримання накопичувальної культури цих бактерій поживне середовище з лактатом і дріжджовим екстрактом інокулюють швейцарським сиром та інкубують в анаеробних умовах. У швейцарський сир, в дозріванні якого пропіоновокислі бактерії грають важливу роль, визначаючи його смак, вони потрапляють з сичужним ферментом, який застосовується в процесі приготування сиру для згортання молока. Сичужний фермент додають у вигляді водного екстракту з телячих шлунків, який містить безліч життєздатних пропіоновокислих бактерій.

Існує кілька видів пропіоновокислих бактерій, з яких найбільш відомим є *Propionibacterium freudenreichii* і його підвиди *P. shermanii* і *P. acidipropionici*.

Бактерії роду *Propionibacterium* представляють собою грампозитивні нерухомі палички, не утворюють спор. Вони облигатні анаероби. Ростуть при температурі 14...35 °C; при температурі 60...70 °C гинуть. Для розвитку вимагають органічні азотисті з'єднання типу білка, набір амінокислот і т.д. Показник рН середовища нижче 4,5... 5,0. При розвитку пропіоновокислих бактерій в сирній масі молочна кислота, яка утворилася молочнокислими бактеріями, перетворюється в пропіонову і оцтову кислоти і CO₂. Виділення CO₂ викликає утворення сирних "вічок", а пропіонова і оцтова кислоти обумовлюють своєрідний гострий смак і аромат сиру. Якщо консистенція сирного тіста пластична, то вічка утворюються круглі, правильної форми.

Якщо сирне тісто крихке, то вічка мають неправильну форму. При попаданні в сир газоутворюючих бактерій у великій кількості виділяється водень, який утворює тріщини і спучування сиру. Пропіоновокислі бактерії здатні виробляти вітамін В12. Цю культуру використовують у біотехнології для отримання цього вітаміну.

Пропіонова кислота використовується як інгібітор пліснявих грибів в харчовій промисловості, при зберіганні зерна і хліба. У концентрації 0,5% пропіонова кислота затримує ріст пліснявих грибів.

Маслянокисле бродіння. Маслянокисле бродіння – це складний біохімічний процес перетворення цукру маслянокислими бактеріями в анаеробних умовах з утворенням масляної кислоти, діоксиду вуглецю і водню:

Глюкоза → масляна кислота + CO₂ + H₂ + 63 кДж/моль

Масляна кислота є летючою рідиною з дуже неприємним запахом. Збудники маслянокислого бродіння широко поширені в природі і належать до роду *Clostridium*, сімейства *Bacillaceae*. Клітини грампозитивні, паличкоподібні, форма клітини може змінюватися в залежності від умов середовища. У молодому віці рухливі, мають перитрихіальне джгутикування. Утворює спори, діаметр яких більший діаметру клітини. Маслянокислі бактерії є облигатними анаеробами, однак існують всі перехідні форми: від суворих анаеробів (*Cl. pasteurianum*, *Cl. kluyveri*) до майже аэротолерантних (*Cl. hisfolyticum*, *Cl. acetobutylicum*). Оптимальна температура росту 30... 40°C, але є термофільні види з оптимальною температурою 60...75°C (*Cl. thermoaceticum*, *Cl. thermohydrosulficum*).

Клостридії ростуть при нейтральній або лужній реакції середовища, тому небажаний ріст маслянокислих бактерій, наприклад у квашеній капусті, силосі, фруктових консервах, сирих ковбасах, можна повністю придушити, якщо продукт підкислити. Клітини клостридій утворюють специфічну запасну речовину – гранулезу у вигляді гранул.

Для отримання масляної кислоти в промисловому масштабі використовують крохмалевмісну сировину: картоплю, зернові та ін. Крохмаль гідролізують 0,4...0,5%-ною сірчаною кислотою. Після нейтралізації середовища вапном і додавання азотовмісних речовин в поживне середовище вносять маслянокислі бактерії.

Масляна кислота представляє собою безбарвну рідину з неприємним запахом, слабкі розчини цієї кислоти мають специфічний сирний запах. Ефіри масляної кислоти мають приємний аромат: метиловий має яблучний аромат, амілові – ананасовий тощо. Ефіри масляної кислоти як ароматичні речовини використовують у кондитерській і парфумерній промисловості, при виготовленні фруктових напоїв.

Маслянокислі бактерії широко поширені в природі, особливо в ґрунті, мулистих відкладеннях на дні водойм, у скупченнях рослинних залишків.

Ацетонобутилове бродіння. Збудником ацетонобутилового бродіння є бактерії виду *Cl. acetobutylicum*: це анаеробні бактерії, рухливі,

грампозитивні, що утворюють спори. В цитоплазмі утворюється гранулеза.

У 1930-х рр. за участю академіка В. Н. Шапошникова був побудований перший ацетонобутиловий завод, на якому мікроорганізми використовувалися як продуценти ацетону і бутилового спирту.

Після відгону з бражки ацетону і спиртів залишаються клітини мікроорганізмів, що містять вітамін В2. В даний час ацетон і бутиловий спирт отримують і хімічним синтезом.

Оцтовокісле бродіння. Оцтова кислота утворюється оцтовокіслими бактеріями, що окисляють етиловий спирт до оцтової кислоти (оцту) з виділенням невеликої кількості енергії:

Етиловий спирт $\rightarrow$ оцтова кислота + H_2O + 494 кДж/моль.

Процес, який здійснюється оцтовокіслими бактеріями, – це типове окислення (бродіння) в аеробних умовах, так як оцтова кислота далі піддається окисленню бактеріями до діоксиду вуглецю і води.

Збудником оцтовокіслого бродіння є *Acetobacter aceti*. Оцтовокісле бродіння було відомо з глибокої давнини. Наприклад, у посудині з виноградним вином або пивом з доступом повітря через день-два на поверхні напоїв з'являється сіренька плівка, а пиво і вино каламутніє і прокисає.

Оцтовокіслі бактерії – це короткі грамнегативні палички, розташовані ланцюжками. Зустрічаються як рухомі та нерухомі штами. Бактерії є суворі аероби, розвиваються тільки на поверхні субстрату, утворюючи плівку, яка моментально розпадається при легкому погойдуванні рідини. Всі види бактерій об'єднані в рід *Acetobacter*.

Оцтовокіслі бактерії широко поширені в природі. Вони зустрічаються на зрілих плодах, ягодах, в квашених овочах, вині, пиві, квасі.

Оцет (оцтова кислота) є продуктом широкого споживання, особливо у народів, що живуть в більш теплому кліматі.

Спонтанний розвиток оцтовокіслих бактерій в вині, пиві, квасі, безалкогольних напоях та інших продуктах призводить до їх псування: прокисання, помутніння, ослизнення.

Оцтовокіслі бактерії крім етилового можуть окисляти і інші спирти, наприклад пропіловий спирт в пропіонову кислоту, бутиловий – у масляну.

Лимоннокисле бродіння. До 1890-х рр. лимонну кислоту одержували у вигляді кристалів з соку цитрусових. Проте вихід її становив 1...9 %, що було економічно не вигідно.

Після того як лимонна кислота була виявлена в культурах грибів, були розроблені основи отримання її в промисловому масштабі. Було встановлено, що один з видів грибів – *Asp. niger* – чудово росте на середовищах з початковим рН 2,5... 3,5 і виділяє великі кількості лимонної кислоти. Низький вихідний рН дозволяє уникнути бактеріального забруднення.

Лимонна кислота використовується в кондитерській промисловості, виробництві безалкогольних напоїв, сиропів, в кулінарії, медицині та ін.

3. Розкладання жиру

Природні жири і жирні олії рослинного і тваринного походження являють собою тверді і напівтверді (жири) або рідкі (мастила) тригліцериди суміші. Тригліцериди являють собою з'єднання гліцерину ефірним зв'язком з залишком або однієї якоїсь кислоти, або з залишками різних жирних кислот. Тваринні жири, крім жирів морських тварин і молочного жиру, складаються переважно з насичених вищих жирних кислот: пальмітинової і стеаринової, а рослинні олії містять переважно ненасичені жирні кислоти: масляну, лінолеву, ліноленову.

Порівняно з багатьма іншими харчовими продуктами чисті жири і олії більше схильні до псування в результаті хімічних перетворень, ніж в результаті життєдіяльності мікроорганізмів. Це пов'язано, по-перше, з тим, що мікроорганізми містять недостатню кількість ферментів, які розщеплюють жири, у порівнянні з системами ферментів для впливу на вуглеводи та білки. По-друге, в чистих жирах і оліях відсутня вода, життєво необхідна мікроорганізмам, мало і мінеральних поживних речовин. Незважаючи на це, у свинячому жирі, що містить всього 0,3 % води, зустрічаються ліпофільні бактерії, що утворюють ліпази, мікрококи і спори *Asp. niger*.

Псування жирів прискорюється багатьма факторами: світлом, киснем, вологістю та ін. В процесах ферментативного розщеплення жирів можуть брати участь не тільки мікроорганізми, які руйнують жири, але й ферменти, що містяться в самих харчових продуктах. Зіпсовані жири і олії називають прогірклими. Із-за неприємного смаку і запаху вони непридатні для харчування людей. Прогірклість жиру викликається насамперед окислювальними і гідролітичними процесами, які найчастіше протікають одночасно. Головною причиною зігрітості харчових продуктів, що містять жири, є окислення ненасичених жирних кислот під дією ліпоксигеназ, що веде до утворення альдегідів і кетонів. Поширена кислотна прогірклість жирів і олій відбувається із-за гідролітичного розщеплення тригліцеридів зі звільненням жирних кислот. Низькомолекулярні жирні кислоти, наприклад масляна кислота, що міститься у великій кількості в оліях, є дурнопахнучою водорозчинною рідиною з гострим (до пекучого) смаком.

Гліцерин, накопичується в жирах при повному їх ферментативному гідролізі мікроорганізмами, добре використовується і споживається бактеріями.

Важко розщеплювані жирні кислоти, які звільнені при розкладанні жиру, переходять в субстрат, накопичуються і піддаються подальшим перетворенням.

Вітамін Е та інші антиоксиданти можуть перешкоджати окисленню жирів. Псування фосфатидвмісних харчових продуктів відбувається в результаті гідролізу з утворенням 3-метиламіна $N(CH_3)_3$, з якого шляхом окислення виходить окис 3-метиламіна, що надає характерного смаку рибі.

Прогірклість сприймається органами почуттів людини як досить

неприємна властивість продукту. Навіть незначний вміст прогірклого жиру може призвести до неможливості споживання харчових продуктів. Деякі мікроорганізми, що руйнують жири (коки, спорові бактерії, гіфоміцети) утворюють жовті, червоні або коричневі жиророзчинні пігменти (барвники), які шляхом дифузії потрапляють в харчовий продукт і викликають небажане фарбування його.

Збудниками процесів розкладання жиру і жирних кислот і є різні бактерії й плісняві гриби. Серед бактерій – збудників процесів розкладання – відносяться роди *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Serratia*, *Proteus* й *Achromobacter*. Всі ці бактерії, крім ліпаз синтезують і інші ферменти, що розщеплюють білки і вуглеводи, тому вони зустрічаються в багатьох харчових продуктах. Психрофільні роди *Pseudomonas* і *Achromobacter* є причиною псування харчових продуктів, що містять жири.

З пліснявих грибів значну ліполітичну активністю мають види *Oidium lactis*, *Cladosporium herbarum*, *Candida lipolitica*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* та ін. Так як вони менш вимогливі до вологості, ніж інші плісняві гриби, вони грають велику роль при руйнуванні жирів і олій, а також харчових продуктів з високим вмістом жирів, таких, як горіхи, майонези, хлібобулочні вироби, олійні насіння і інші, завдаючи великої шкоди.

Для підвищення стійкості продукту до прогрікання, особливо при тривалому зберіганні, використовують холод. Для маргаринів розроблені спеціальні пастеризаційні установки. У майонези, які особливо легко руйнуються бактеріями, дріжджами і гіфоміцетами, допускається в обмеженій кількості додавання хімічних консервантів (бензойної кислоти і її похідних). Сприятливі умови створює герметична упаковка, так як руйнуючі жир мікроорганізми є в основному аеробами.

Розпад жирів мікроорганізмами в природі (у ґрунті, воді) відбувається постійно і має велике значення в загальному круговороті речовин у природі.

4. Процеси гниття

Механізм перетворення мікроорганізмами азотовмісних речовин. Азот – один з найважливіших елементів на Землі - входить в складу білків і нуклеїнових кислот, його багато в складі атмосфери, у вигляді органічних і мінеральних сполук азот знаходиться в ґрунті і воді.

В перетворення азоту в круговорот речовин у природі велику роль грають мікроорганізми.

Як і інші високомолекулярні сполуки, білки спочатку розщеплюються екзопротеазами мікроорганізмів на фрагменти – полі- і олігопептиди, амінокислоти, які можуть проникати всередину клітини. Наприклад, пептиди, які потрапили всередину клітини, можуть гідролізуватися ендоферментами до амінокислот і потім використовуватися клітиною для синтезу власних білків або піддаватися подальшим змінам і втягуватися в обмін речовин.

Розпад білків супроводжується виділенням аміаку, тому цей розпад

називають ще мінералізацією азоту або гниттям. Гниття – це процес глибокого розкладання білкових речовин мікроорганізмами. Гниття викликають численні гриби і бактерії.

Амінокислоти, що утворилися піддаються декарбоксилюванню, дезамінуванню і трансамінуванню.

Дезамінування – процес відщеплення аміаку від амінокислоти. Залежно від подальших перетворень вуглецевого "скелета" амінокислот розрізняють окисне і гідролітичне дезамінування і дезамінування, що закінчується утворенням ненасичених сполук.

Окисне дезамінування – найбільш поширений тип розпаду амінокислот, при якому утворюються кетокислоти і аміак. Гідролітичне дезамінування призводить до утворення оксикислот та аміаку.

Трансамінування супроводжується перенесенням аміногрупи амінокислоти на 2-оксикислоту, при цьому утворюються амінокислоти, які не можуть бути синтезовані шляхом прямого амінування аміаком. Це далеко не всі шляхи розпаду амінокислот.

Подальші перетворення вуглецевого "скелета" у різних амінокислот різні. Утворюється багато різних органічних кислот, спиртів та ін. Такі продукти дезамінування, як піровиноградна, щавелевооцтова, 2-оксиглутарова кислоти є одночасно і проміжними продуктами центральних шляхів катаболізму. Інші з'єднання через спеціальні катаболітичні шляхи залучаються до проміжного обміну.

При розкладанні деяких амінокислот утворюються такі проміжні продукти, як фенол, крезол, скамол, індол, які мають дуже неприємний запах. При розпаді амінокислот, що містять сірку, виходить сірководень або меркаптани з запахом тухлих яєць, який відчувається навіть при дуже малих концентраціях.

Подальші перетворення азотистих і безазотистих речовин, що утворюються при розпаді амінокислот, залежать від навколишніх умов і складу мікрофлори.

Анаеробні мікроорганізми окислюють амінокислоти з накопиченням проміжних сполук у вигляді органічних кислот, амінів та інших, в числі яких можуть бути речовини, що мають отруйні властивості, а також речовини, що надають гниючому матеріалу огидного запаху.

Мікроорганізми – збудники гниття. Аммоніфікація білкових сполук є першим мікробіологічним процесом по перетворенню азотних сполук в природі, який протікає при температурі не нижче 10 °C з певною вологістю. Аммоніфікація здійснюється різними мікроорганізмами: аеробними, факультативно-анаеробними і анаеробними.

Аеробні мікроорганізми окислюють азотвмісні речовини до повної мінералізації, кінцевими продуктами якої є аміак, CO₂, H₂O, сірководень, тощо. До аеробних бактерій відносять *Bacillus subtilis*, *B. megaterium*, *B. mycoides*, *Serratia marcescens*.

До факультативно-анаеробних мікроорганізмів відносяться *Proteus vulgaris* і *E.coli*.

До анаеробних мікроорганізмів відносяться *Clostridium putrificum* і *Clostridium sporogenes*, які є одними з найбільш поширених збудників анаеробного розкладання білків і утворюють велику кількість газів.

Крім бацил і бактерій білок розкладають актиноміцети і гриби, але аммоніфікуюча здатність їх нижча і виражена в різній мірі.

Крім білків ці мікроорганізми здатні розкласти пектинові речовини, полісахариди рослинних тканин, зброджувати вуглеводи.

Вони є збудниками псування багатьох харчових продуктів: м'яса, м'ясопродуктів, риби і рибопродуктів, яєць, молока і ін. Але ці мікроорганізми грають велику позитивну роль в круговороті речовин у природі, мінералізуючи білкові речовини, що попадають у ґрунт і воду.

ЛЕКЦІЯ 8

Тема 8. Взаємовідносини між мікроорганізмами

1. Взаємовідносини між мікроорганізмами.
2. Інфекція та імунітет. Патогенні мікроорганізми, їх основні властивості.
3. Харчові (кишкові) інфекції та інфекційні захворювання, викликані патогенними мікроорганізмами.
4. Харчові отруєння, що викликаються мікроорганізмами
5. Профілактика харчових захворювань, що викликаються патогенними мікроорганізмами

1. Взаємовідносини між мікроорганізмами

Взаємовідносини різних організмів, які живуть в екосистемі, бувають найрізноманітнішими. Мікроби об'єднані в стійкі екологічні системи – мікробіоценози. Мікроорганізми в різних угрупованнях пов'язані між собою енергетичними ланцюгами і відчувають взаємний вплив. Взаємовідносини між організмами в цих угрупованнях складні й динамічні через постійні зміни екологічних умов і мінливість самих мікроорганізмів. Вивчення цих взаємовідношень має надзвичайно важливе значення для розуміння кругообігу речовин у природі, утворення ґрунтів, еволюції видів прокаріотів.

Упродовж еволюції в живій природі виникли різноманітні взаємовідносини як між мікроорганізмами, так і між мікро- та макроорганізмами.

Симбіоз – взаємно корисне співіснування організмів різних видів. Розрізняють ендосимбіоз (мікроорганізм росте і розвивається у середині клітинного господаря) та ектосимбіоз або екзосимбіоз (мікроорганізм займає зовнішнє положення по відношенню до клітин господаря).

Прикладом симбіозу є співжиття молочнокислих бактерій і дріжджів.

Бактерії утворюють молочну кислоту, яка підкислює середовище, створюючи сприятливі умови для росту дріжджів. Останні синтезують ростові речовини, необхідні для розвитку бактерій. Інші приклади симбіозу – лишайник (симбіоз водорості й гриба), бульбочкові бактерії та бобові рослини.

Симтрофізм – відношення мікроорганізмів, при яких спостерігається взаємне постачання необхідними поживними речовинами. Наприклад: гриб роду *Mucor* і дріжджі роду *Rhizotorula* потребують вітамін В₁ (тіамін). Якщо ці мікроорганізми вирощувати в змішаній культурі, то перший вид буде виділяти пірілідитовий, а другий тіазоловий компоненти і потреби обох будуть задоволені.

Мутуалізм – різновидність симбіозу, при якому також існує взаємосприятливий вплив обох партнерів, наприклад взаємовідносини між мікрофлорою рубця жуйних і організмом тварини. Бактерії розкладають клітковину в рубці до сполук, які засвоюються організмом хазяїна, а останній забезпечує бактерії поживними речовинами і захищає їх від несприятливих умов.

Коменсалізм – форма симбіозу, при якій має вигоду тільки один партнер, не завдаючи ані шкоди, ані користі іншому. Прикладом цього може бути симбіоз організму людини з нормальною мікрофлорою її тіла (сапрофітна мікрофлора шкіри, травного каналу тощо).

Метабіоз – взаємовідносини між мікробами, при яких продукти метаболізму одного виду прокаріотів використовуються як пожива або енергетичний матеріал іншим видом мікробів. Наприклад, амоніфікатори розкладають білки з утворення КНЗ, який використовується нітрифікуючими бактеріями.

Синергізм. При цій формі взаємовідносин у симбіонтів взаємно посилюються фізіологічні функції і виникають нові властивості. Це явище можна спостерігати при співжитті оцтовокислих бактерій і дріжджів. Бактерії перетворюють цукри на кислоти, які використовуються дріжджами, а останні забезпечують бактерії вітамінами.

Сателізм – різновид асоціативних взаємин, який передбачає стимуляцію одного мікроорганізму іншим. Так, дріжджові гриби і сарцини, що продукують різні амінокислоти і вітаміни, дуже часто сприяють росту і розмноженню інших, більш вимогливих до живильного субстрату бактерій – молочнокислих або оцтовокислих.

Метабіоз – взаємини, при яких один мікроорганізм своєю життєдіяльністю створює умови для розвитку іншого, який, як правило, продовжує процес, початий першим. Наприклад, амоніфікуючі бактерії розкладають органічні азотвмісні сполуки з утворенням аміаку, створюючи тим самим субстрат для розвитку нітрифікаторів. Останні окислюють аміак на 1-й фазі до солей азотистої кислоти – нітритів і на 2-й фазі – до нітратів, які служать акцепторами електронів при нітратному диханні денітрифікуючих бактерій.

Антагонізм – тип співіснування, коли продукти життєдіяльності одного виду гальмують розвиток іншого або навіть визивають його загибель (наприклад: молочнокислі бактерії служать антагоністами гнилісним мікроорганізмам).

В багатьох випадках згубна дія мікробів–антагоністів зв'язана з виділенням ними в середовище антибіотиків (біологічно активні хімічні речовини, здатні навіть в малих кількостях подавляти ріст мікроорганізмів). Відомо вже більше 2000 антибіотиків. До синтезу антибіотиків здатні головним чином гриби (*Aspergillus*, *Penicillium*), актиноміцети (*Streptomyces*) та деякі бактерії. Як хіміотерапевтичний засіб застосовують біля п'ятидесяти (пеніцилін, стрептоміцин, граміцидин С, хлортетрациклін, грізеофульвін та ін.).

Паразитизм – один мікроорганізм розвивається за рахунок іншого, призводячи до його загибелі, є крайнім проявом конкурентних взаємин мікроорганізмів.

Паразитизм без контакту з господарем в ґрунті зустрічається досить часто і проявляється в тому, що паразити виділяють ферменти, які здатні розчиняти атаковані клітини бактерій.

Паразитизм в контакті з господарем проявляється в нападі одних мікроорганізмів на інші: поїдання бактерій – найпростіших; бактерії роду *Bdellovibrio* здатні вбивати і поїдати бактерії інших видів; окремі види грибів поїдають водорості або інші види грибів, особливо хижі гриби *Chytridiales*.

2. Інфекція та імунітет

Інфекція – це взаємодія патогенних мікробів (за сприятливих умов) з організмом людини, тварини або рослини, внаслідок чого виникають інфекційні захворювання.

Забруднення патогенними мікроорганізмами харчових продуктів призводить до таких небезпечних хвороб: червоного тифу, паратифу, холери, дизентерії, скарлатини, туберкульозу, сибірки тощо. Навіть невеликі дози цих збудників спричиняють захворювання, оскільки, потрапляючи в організм, вони починають активно розмножуватись. Хвороботворні мікроби можуть проникати в організм людини через повітря, воду, бацилоносіїв – хворих людей і тварин, комах, гризунів та іншими шляхами.

Характерні ознаки захворювання проявляються не відразу, а через деякий час після приймання їжі, який називається **інкубаційним періодом**. Саме тоді мікроби починають розмножуватись, і в організмі накопичуються сильнотоксичні продукти їх життєдіяльності. При різних захворюваннях тривалість інкубаційного періоду становить від декількох годин до декількох тижнів і навіть місяців. Після його закінчення з'являються симптоми характерні для конкретного інфекційного захворювання.

Інфекції виникають тільки при наявності живих клітин патогенних мікроорганізмів, які мають певний інкубаційний період і свої ознаки.

Вірулентність (від лат. Virulentus — «отруйний»), ступінь хвороботворності (патогенності) даного інфекційного агента (вірусу, бактерії або іншого мікроба). Вірулентність залежить як від властивостей інфекційного агента, так і від чутливості інфікованого організму.

Вірулентність, або ступінь патогенності мікробів змінюється залежно від умов їхнього існування. Патогенні мікроби виробляють отруйні речовини – токсини. Вони бувають двох видів: екзотоксини і ендотоксини. Екзотоксини виділяються з клітин в навколишнє середовище в період життєдіяльності мікроорганізмів, а ендотоксини – лише після порушення цілісності клітинної стінки. Екзотоксини більш отруйні ніж ендотоксини.

Організм людини або тварин може не сприймати дію патогенних мікробів. Такий етап називається імунітетом. Інакше кажучи, організм здатний протистояти розмноженню мікроорганізмів і знезаражувати токсини (отрути).

Імунітет (від лат. immunitatis – звільнення) – нечутливість організму до чужорідних агентів, у тому числі до патогенних мікроорганізмів.

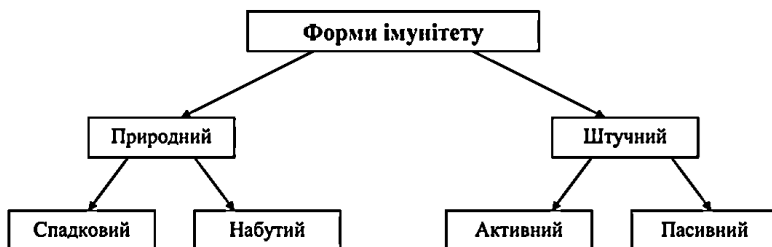


Рисунок 5. Класифікація форм імунітету

Імунітет буває **природним** (спадковий і набутий) і **штучний**. Спадковий імунітет обумовлений захисною функцією ряду тканин, наприклад, шкіри, слизових оболонок. Шкіра не тільки затримує на поверхні патогенні мікроби але й виділяє речовини, які знищують їх. Бактерицидними властивостями наділені слина та шлунковий сік людини. Набутий імунітет виникає у людей які перенесли інфекційне захворювання або після введення їм вакцин і сироваток.

Для того, щоб набути штучний імунітет, використовують вакцину (активний імунітет) – препарат з ослабленою вірулентністю мікроорганізмів і сироватки (пасивною) – готові захисні речовини (антитіла).

Імунна система - сукупність клітинних елементів, що й перебувають у рідких середовищах організму гуморальних факторів, які забезпечують розпізнавання, нейтралізацію, виведення або відторгнення генетично чужорідного матеріалу.

Патогенні мікроорганізми, їх основні властивості.

Технологам харчових виробництв необхідно знати основи вчення про патогенні мікроорганізми – збудників різних інфекцій, захворювань і отруєнь

людини і тварин.

Патогенними називаються такі мікроорганізми, які викликають захворювання людини, тварин і рослин. Вони характеризуються трьома основними властивостями: патогенністю, вірулентністю і токсиноутворенням.

Патогенність – здатність патогенних мікроорганізмів викликати захворювання (гр. *pathos* – страждання, хвороба, *genes* – народжує). Патогенність є видовою властивістю бактерій, тобто вона властива виду в цілому, але в той же час у різних представників даного виду вона може бути різною.

Вірулентність (лат. *virulentus* – отруйний) – це ступінь (міра) патогенності. Вірулентність може бути посилена (підвищена) або ослаблена (знижена) в результаті впливу на патогенний мікроорганізм різними способами.

Токсинутворення – здатність патогенних мікроорганізмів виробляти токсини двох типів: ендотоксини і екзотоксини, які володіють своєрідною дією і викликають глибокі порушення життєдіяльності організму.

Ендотоксини, що утворюють тільки грамнегативні бактерії, представлені ліпополісахаридами і пов'язаними з ними білками. Вони термостабільні і вивільняються з бактеріальних клітин після їх руйнування, не мають специфічності дії. Ендотоксини є запалюючими агентами: вони збільшують проникність капілярів і справляють руйнівну дію на клітини. Запальна дія неспецифічна.

Всі відомі екзотоксини є білками, серед яких є термолабільні і термостабільні. Всі вони володіють високою силою дії (найсильніші токсини в природі – мікробного походження), високою вибірковістю і специфічністю дії, яку вони виявляють після деякого інкубаційного періоду. Екзотоксини є сильними антигенами і індукують утворення в організмі антитіл, тобто антитоксинів, які нейтралізують їх дію. Екзотоксини руйнують еритроцити, лейкоцити, тромбоцити і інші формені елементи крові, а також клітини культур тканин. Інші екзотоксини пригнічують життєво важливі процеси в клітині: синтез білка (дифтерійний токсин), перенесення електронів по ланцюгу.

Технологам харчових виробництв необхідно знати умови розповсюдження патогенних мікроорганізмів, які потрапляють на харчові продукти та кулінарні вироби, про харчові інфекційні захворювання і отруєння, які вони можуть викликати.

3. Харчові (кишкові) інфекції та інфекційні захворювання, викликані патогенними мікроорганізмами

Основні джерела інфекцій. Існують три основні джерела інфекції: людина, тварини та об'єкти зовнішнього середовища, що служать природним середовищем існування деяких патогенних бактерій.

Інтерес представляють патогенні мікроорганізми, які потрапляють в організм людини з зовнішнього середовища, головним чином з ґрунту, води і

харчових продуктів.

Особливо важливу роль в епідеміології кишкових інфекцій грають інфіковані вода і харчові продукти.

На харчових продуктах збудники харчових інфекцій можуть довго зберігатися життєздатними і вірулентними, багато з них стійкі до низьких температур і виживають навіть в заморожених продуктах.

Іжа, інфікована патогенними мікроорганізмами, служить причиною виникнення інфекційних захворювань. Патогенні мікроорганізми потрапляють на харчові продукти різними шляхами: з рук персоналу; з повітря з пилом; з забруднених води або льоду, які використовуються при зберіганні; при контакті із зараженою тварою. М'ясо, молоко та інші продукти можуть бути заражені патогенними мікроорганізмами, якщо вони одержані від хворої тварини або бацілоносія.

Для виникнення інфекційного захворювання досить знаходження в їжі невеликої кількості живих клітин патогена, які внаслідок високої патогенності активно розмножуються в організмі людини і викликають специфічне захворювання.

Характеристика інфекційного захворювання. Розвиток інфекційного захворювання. Однією з форм інфекції (найважчою, але не єдиною) є інфекційне захворювання. Розвиток інфекційної хвороби характеризується певною циклічністю, зміною періодів. Розрізняють інкубаційний і продромальний періоди, періоди розвитку (розквіту) хвороби і одужання.

Інкубаційний період – це період від моменту зараження до появи перших ознак захворювання. В організмі відбувається активне розмноження збудника і накопичення токсинів до потрібної кількості, після якого настає наступний період – продромальний.

Продромальний період – період провісників неспецифічних загальних проявів: слабкості, розбитості, головного болю, загальне нездужання, підвищеної температури. Тривалість продромів становить 24...48 год. У період розквіту хвороби відбувається наростання симптомів: лихоманка, інтоксикація, запалення, поява висипки.

Період одужання – наступ клінічного одужання, яке відбувається зазвичай раніше бактеріологічного. В цей період людина практично здорова, але продовжує залишатися бактеріоносієм.

Види харчових інфекційних захворювань. Збудниками гострих бактеріальних кишкових захворювань (діарея) є багато видів бактерій, але найбільш часто – представники сімейства Enterobacteriaceae з наступними ознаками: всі вони є короткими паличками; спор не утворюють; рухливі (перитрихи), але є і нерухомі; грамнегативні; факультативні анаероби або аероби; місце проживання – шлунково-кишковий тракт і дихальні шляхи, шлях зараження – фекально-оральний. Сімейство налічує більше 30 родів і більше 100 видів. Найбільш важливими для людини є наступні роди: Escherichia, Salmonella, Shigella, Vibrio, Brucella, Bacillus, Mycobacterium, Yersinia, Listeria

та інші.

Харчові інфекційні захворювання протікають як типові заразні хвороби, з характерними для кожної клінічними ознаками.

Ешеріхіози. Збудниками цих інфекційних захворювань є бактерії виду *Escherichia coli* роду *Escherichia*. Бактерії *E. coli* викликають різні захворювання, у тому числі гнійні запалення, але найчастіше вони є збудниками діареї. За українським і міжнародним стандартами наявність *E. coli* є показником ступеня фекального забруднення харчових продуктів і особливо питної води.

На середовищі Ендо *E. coli* ростуть у вигляді темно-малинових з металевим блиском колоній. Для росту бактерій оптимальною є температура 37°C.

Бактерії *E. coli* утворюють два типи екзотоксинів: цитотоніни і цитотоксини, а також ендотоксини – ліпополісахариди. Цитотоніни сприяють гіперсекреції рідини, що містить іони Na⁺, K⁺ і бікарбонати, в клітинах кишечника, що призводить до порушення водно-сольового обміну та розвитку діареї. Цитотоксини викликають руйнування клітин епітелію і стінки капілярів кишечника.

Лабораторна діагностика хвороби заснована на виділенні чистої культури *E. coli*.

Лікування захворювань проводиться антибіотиками. Для відновлення водносольового обміну застосовують оральні сольові розчини.

Черевний тиф (гр. typhos – туман). Це тяжке гостре інфекційне захворювання характеризується глибокою загальною інтоксикацією, бактеріємією, специфічним враженням лімфатичного апарату тонкого кишечника. Інтоксикація проявляється сильним головним болем, запамороченням, маячнею.

Збудником черевного тифу є патогенні мікроорганізми роду *Salmonella*, які включають в себе велику групу бактерій, але тільки три з них – *S. typhi*, *S. paratyphi A* й *S. paratyphi B* викликають захворювання у людей з клінічної картиною черевного тифу. Оптимальною для росту бактерій є температура 37°C. На середовищі Ендо колонії всіх трьох сальмонел безбарвні, на вісмутсульфітагарі мають чорний колір.

Джерелом черевного тифу та паратифу А є тільки хвора людина. Зараження – фекально-оральне (через їжу, воду, особливо молоко). Найбільш великі епідемії викликало інфікування збудниками водопровідної води. Інкубаційний період при черевному тифі триває 15 днів, але може варіювати від 7 до 25 днів, що залежить від дози, що заражає, вірулентності збудника і імунітету хворого. Для лікування використовують такі антибіотики, як левоміцетин, ампіцилін та ін.

Дизентерія. Це одне з найбільш частих гострих кишкових захворювань, яке характеризується загальною інтоксикацією організму, проносом і своєрідним ураженням слизової оболонки товстого кишечника. Збудниками

дизентерії є велика група бактерій, об'єднаних в рід *Shigella*, який включає у себе 40 серотипів. Оптимальною температурою для росту бактерій є 37°C.

Шигелли мають досить високу стійкість до факторів зовнішнього середовища. Вони виживають на бавовняній тканині і на папері протягом 30...36 днів, в ґрунті – до 3...4 міс, у воді – 0,5...3 міс, на фруктах і овочах – до 2 тижнів, в молоці і молочних продуктах – до декількох тижнів. Шигелли чутливі до розчинів хлораміну, активного хлору та інших антисептиків.

Найважливіша біологічна властивість шигел, що обумовлює їх патогенність, – здатність впроваджуватися в епітеліальні клітини, розмножуватися в них і викликати їх загибель. Джерелом інфекції є тільки людина. Тварини дизентерією не хворіють. Зараження – фекально-оральне (через воду, їжу, особливо молоко і молочні продукти), а також контактно-побутове. Інкубаційний період при дизентерії триває протягом 2...5 днів, іноді менше доби. Найбільш типові клінічні прояви наступні: пронос і загальна інтоксикація.

Холера. За визначенням ВООЗ, холера – це хвороба, для якої типовий гострий важкий зневоднювальний пронос з випорожненнями у вигляді рисового відвару, що є наслідком зараження холерним вібріоном. Широке поширення, важкий перебіг хвороби і висока летальність роблять холеру особливо небезпечним інфекційним захворюванням.

Холерний вібріон може довго зберігатися у воді і розмножуватися при сприятливих умовах. Сприятливими умовами для холерного вібріона є висока температура (середньорічна від 25 до 29 °C), велика кількість опадів, висока щільність населення, велика кількість органічних речовин у воді (безперервне забруднення води стічними водами), низький матеріальний рівень життя і своєрідні релігійно-культові обряди населення.

Збудником холери є бактерії роду *Vibrio*, який налічує понад 25 видів. Бактерії роду *Vibrio* – це короткі вигнуті або прямі грамнегативні палички. Спор і капсул не утворюють, рухливі, мають один джгутик, добре і швидко ростуть на звичайних середовищах.

Холерні вібріони добре виживають за низької температури: у льоді зберігають життєздатність до 1 міс., в морській воді – до 47 діб, в річковій воді – від 3...5 днів до декількох тижнів, на варених продуктах (рис, м'ясо, каші) – 2...5 днів, на сирих овочах – 2...4 дні, в молоці і молочних продуктах – 5 днів; на полотняній білизні – термін виживання збільшується на 7 днів. Холерні вібріони гинуть при 80°C через 5 хв, при 100°C – відразу, високочутливі до кислот та хлору. Основним джерелом інфекції є хвора людина або вібріоносій, і забруднена вода. Зараження – фекально-оральне (в основному через воду і їжу), а також контактно-побутовим шляхом.

Бруцельоз. Це своєрідне захворювання людей і тварин спричиняють бактерії роду *Brucella*. Людина заражається бруцельозом від домашніх тварин (вівці, коні, корови, свині), які є головним природним резервуаром збудника. Зараження відбувається при вживанні сирого молока.

Бруцели мають хорошу стійкість у зовнішньому середовищі. Вони зберігаються у ґрунті і воді до 2...3, інколи до 4,5 міс, в молоці до 275 днів, в маслі – до 142 днів, в сирі – до 1 року, в кефірі до 11 днів. Бактерії чутливі до підвищеної температури: при 70°C гинуть через 10 с, при кип'ятінні за декілька секунд. Бруцели чутливі до різних дезінфікантів.

Сибірська виразка. Це гостре інфекційне захворювання людей і тварин, збудником якого є бактерії *Bacillus anthracis*.

Бактерії *B. anthracis* – грампозитивні; не мають джгутиків; утворюють спори, які розташовуються центрально, і капсули; оптимальною для росту є температура 37... 38°C. Бактерії ростуть на звичайних поживних середовищах, на щільних середовищах утворюють характерні великі матові шорсткуваті колонії.

Одним з важливих факторів вірулентності *B. anthracis* є капсула, що оберігає бактерії від фагоцитозу. Втрата капсули призводить до втрати вірулентності. Іншим важливим фактором вірулентності є складний комплекс токсину.

У вегетативній формі збудник гине при температурі 75 °C через 5... 10 хв, спори ж надзвичайно стійкі: у ґрунті зберігаються десятки років. Спори довго зберігаються в шерсті і шкірі тварин, використовуваних для різної вичинки.

Основним джерелом сибірської виразки є хворі травоядні тварини, які протягом всього періоду хвороби виділяють збудник із сечею, випорожненнями і слиною в ґрунт, інфікуючи його, внаслідок чого він теж стає резервуаром збудника.

Зараження тварин відбувається аліментарним шляхом через корм або питну воду, заражені спорами. При безпосередньому контакті від хворої тварини до здорової збудник не передається.

Інфекція проникає через шкіру і слизові оболонки шлунково-кишкового тракту і дихальних шляхів. Захворювання сибірської виразкою протікає в шкіряній (до 98 % всіх випадків захворювань), кишковій або легеневій формі. Профілактика захворювання сибірською виразкою зводиться до вакцинації тих осіб, у яких існує можливість зараження сибірською виразкою. В даний час для профілактики сибірки у людей і тварин застосовують високоефективну живу спорову безкапсульну вакцину, яка готується з авірулентного штаму палички сибірської виразки.

Туберкульоз (від лат. tuberculum – горбок). Це інфекційне захворювання людини і тварин, при якому відбувається утворення маленьких горбків, переважно локалізованих у легенях і лімфатичних вузлах. Туберкульоз розповсюджений повсюди. У захворюваності туберкульозом і його поширенні вирішальне значення мають соціально-побутові умови життя, так як і вроджена стійкість, і придбаний до нього імунітет визначаються цими умовами.

Збудником є бактерії туберкульозу виду *Mycobacterium tuberculosis*. Мікобактерії широко поширені в природі: вони зустрічаються в ґрунті, воді, в

організмі теплокровних і холоднокровних тварин.

M. tuberculosis – тонкі короткі і довгі нерухомі палички, не утворюють спор і капсул; грампозитивні; аероби; оптимальною для росту є температура 37°C. Багато біологічних властивостей мікобактерій пояснюються високим вмістом в клітині ліпідів (до 40 %).

Джерелом зараження є людина, хвора на туберкульоз, рідше – тварини. Від хворої людини збудник виділяється головним чином з мокротинням, а також з сечею, випорожненнями і гноєм. Туберкульозна паличка проникає в організм частіше всього повітряно-крапельним (через дихальні шляхи) або повітрянопиловим шляхом. Інфекція проникає через будь-які слизові оболонки і будь-яку пошкоджену ділянку шкіри. Зараження від великої рогатої худоби відбувається в основному аліментарним шляхом через інфіковані молоко і молочні продукти. Туберкульозна паличка може вражати практично будь-який орган і будь-яку тканину.

Організм людини володіє високою природною резистентністю до збудника туберкульозу. У більшості випадків первинне зараження призводить не до розвитку захворювання, а до формування вогнища, його відмежування і вапнінню. Природна резистентність багато в чому визначається соціальнопобутовими умовами життя. Лікування туберкульозу проводять за допомогою антибіотиків і хіміопрепаратів.

Профілактика туберкульозу передбачає проведення широких соціально-економічних заходів, раннього і своєчасного виявлення хворих на туберкульоз і надання їм ефективної лікувальної допомоги. Велике значення має планова вакцинація проти туберкульозу вакциною БЦЖ.

4. Харчові отруєння, що викликаються мікроорганізмами

Токсикози. Токсикози, або харчові інтоксикації, викликаються екзотоксинами, які продукують бактерії в період їх життєдіяльності поза організмом на різних харчових продуктах.

Токсикози можуть бути бактеріальної та грибової природи.

Бактеріальні токсикози. До бактеріальних токсикозів відносяться ботулізм і стафілококова інтоксикація.

Ботулізм – важка форма харчової інтоксикації, пов'язана з вживанням продуктів, заражених **Clostridium botulinum**, і характеризується специфічним ураженням центральної нервової системи.

C. botulinum – досить великі палички із закругленими кінцями; розташовуються безладно, іноді парами, у вигляді коротких ланцюжків; грампозитивні; рухливі. Бактерії не утворюють капсул, мають овальні спори, які розташовуються субтермінально, надаючи паличці форму, що нагадує ракетку. **C. botulinum** не розмножується на продуктах при кислій реакції (pH 3...4) і при концентрації NaCl вище 10%.

C. botulinum утворює цілий ряд різних токсинів, які розрізняються за антигенною специфічністю. Важливою ознакою є здатність збудника

виробляти протеолітичні ферменти. **C. botulinum** довго зберігається в природі та у харчових продуктах, так як утворює спори, які при сприятливих умовах у літній час можуть проростати і розмножуватися. Спори добре переносять низькі температури, не гинуть навіть при -190°C . У висушеному вигляді зберігають життєздатність десятиліттями, стійкі до нагрівання. Спори переносять кип'ятіння протягом 5 год, при температурі 105°C гинуть через 1...2 год, при 120°C – через 20... 30 хв.

Головний фактор патогенності збудника ботулізму – екзотоксин (нейротоксин), який складається з токсичних білкових компонентів. Крім нейротоксичні активності різні типи **C. botulinum** володіють лейкоцитоксичною, гемолітичною і лецитиназою активністю. Наприклад, лейкотоксин пригнічує фагоцитоз без руйнування лейкоцитів.

Природним середовищем існування **C. botulinum** є ґрунт, звідки потрапляє у воду, на харчові продукти, в кишечник людини, ссавців, птахів, де вони розмножуються.

Організм людини вражається не тільки токсином, що міститься в харчовому продукті, але і токсином, який утворюється у травному тракті і тканинах у зв'язку з проникненням туди збудника. Отруєння спостерігалися навіть тоді, коли людина брала в рот заражений продукт, не ковтаючи його.

В основі профілактики ботулізму лежить суворе дотримання санітарно-гігієнічного режиму при обробці продуктів на підприємствах харчової промисловості, особливо пов'язаних з приготуванням консервів, шинки, ковбас, а також при копченні, солінні риби і приготуванні з неї баліків. Виготовлені консерви після термічної обробки повинні піддаватися термостатному контролю. Їх витримують в термостаті при 37°C протягом певного часу. Клостридії, що збереглися в консервах, викликають бомбаж (здуття) банок, а вміст банок видає запах прогірклої олії. Такі консерви підлягають вилученню. Для соління риби необхідно використовувати міцні сольові розчини – розсоли, що містять 10... 12 % NaCl. Особливо небезпечними можуть бути консерви домашнього приготування, насамперед грибні, виготовлені без дотримання необхідного режиму.

Стафілококова інтоксикація викликається такими патогенними мікроорганізмами, як стафілококи, що представляють собою грампозитивні, правильної форми кулясті клітини, розташовані зазвичай у вигляді грон. Широко поширені у природі, стафілококи не мають джгутиків і не утворюють спор. Головним джерелом розповсюдження стафілококів є шкірні покриви людини і тварин та їх слизові оболонки, сполучені з зовнішнім середовищем. Стафілококи – факультативні анаероби; добре ростуть на звичайних середовищах при температурі $35...+37^{\circ}\text{C}$.

Опис стафілококів включає в себе понад 20 видів, які поділяють на дві групи: коагулазопозитивні і коагулазонегативні стафілококи. Патогенними для людини є коагулазопозитивні стафілококи.

Стафілокок є унікальним мікроорганізмом: може викликати більше 100

різних захворювань. Стафілококи можуть вражати будь-які тканини й органи. Ця властивість стафілококів обумовлена наявністю у них великого комплексу чинників патогенності.

Стафілококи викликають харчову інтоксикацію (харчове отруєння), що пов'язане зі здатністю стафілококів утворювати ентеротоксини А і D, механізм дії яких мало вивчений. Отруєння найчастіше пов'язано з вживанням інфікованих стафілококом молочних продуктів (морозива, тістечок, тортів, сиру, і т.п.) і консервів з маслом. Інфікування молочних продуктів може бути пов'язано з маститами у корів або з гнійно-запальними захворюваннями людей, що мають відношення до виробництва продуктів. Інкубаційний період 2...4 год.

Стафілококи володіють великою стійкістю до зовнішніх факторів: добре переносять висихання, залишаються життєздатними і вірулентними тижнями і місяцями в сухому пилю, будучи джерелом пилової інфекції. Вони стійкі до високої температури: витримують сухий жар (110°C) протягом 2 год, нагрівання до 80°C протягом 30 хв, добре переносять низькі температури.

Профілактика стафілококової інфекції полягає в суворому дотриманні правил особистої гігієни, відстороненні від роботи пов'язаної з безпосередньою обробкою харчових продуктів і їх виготовленням, осіб з гнійничковими захворюваннями, фарингітами, ангінами, іншими проявами стафілококової інфекції. На підприємствах харчової промисловості і громадського харчування необхідно забезпечити суворе дотримання технологічних норм при обробці харчових продуктів, їх транспортуванні і зберіганні.

Токсикози грибкової природи. Отруєння, причиною яких служать гриби, синтезуючі токсини, називають мікотоксикозами.

Мікотоксини являють собою вторинні метаболіти мікроскопічних цвілевих грибів. З продуктів харчування виділено близько 30 тис. видів цвілевих грибів, більшість з яких продукує високотоксичні метаболіти, зокрема більше 120 мікотоксинів.

У продуктах харчування та продовольчій сировині найбільш поширені високотоксичні мікотоксини: афлатоксини, охратотоксини, рубратоксини, патулін, ісландітоксин, зеараленон, цитріовіридин та ін

Патулін, що продукується пеніцилами і аспергілами, виявляється переважно в продуктах, отриманих з запліснявілих фруктів і ягід. У фруктових і овочевих соках і пюре для дорослих ГДК патуліну – 50 мкг / кг, для дітей – 20 мкг / кг.

Найбільш поширені і добре вивчені мікотоксикози – афлатоксикоз, фузаріотоксикоз і ерготизм.

Афлатоксикоз. Захворювання, що викликається грибами, здатними продукувати афлатоксини, носить назву афлатоксикоз. При цьому в організмі людини відбуваються порушення проникності мембран субклітинних структур і придушення синтезу ДНК і РНК, порушується синтез білків. Поряд з

загальнотоксичною дією проявляються яскраво виражена канцерогенна і мутагенна активність афлатоксинів.

Найбільш вивченими є афлатоксини, що продукують гриби роду **Aspergillus**, оптимальними умовами для розвитку яких є $t = 20 - 30^{\circ}\text{C}$ і $W = 85 - 90\%$.

Велика кількість афлатоксинів виявляється в молоці тварин після вживання ними зараженого корму. Розвиток аспергілів і продукування ними у великій кількості афлатоксинів притаманне для горіхів арахісу, злакових і бобових культур, м'яса, яєць.

Фузаріотоксикози. Згідно з прийнятою в нашій країні класифікацією, до фузаріотоксикозів відносять захворювання:

1. Аліментарно-токсична алейкія, яку викликають продуценти мікроскопічних грибів **Fusarium sporotrichioides**. Хвороба вражає як людей, так і сільськогосподарських тварин, завдаючи шкоди кровотворним органам. При цьому у людини кількість лейкоцитів знижується до 1000 в 1 мм^3 і менше, що служить найбільш раннім об'єктивним показником аліментарно-токсичної алейкії.

Оптимальною для розвитку гриба є температура $12... 27^{\circ}\text{C}$, але гриб здатний рости і виробляти токсин і при температурі нижче 0°C ($-2...-3^{\circ}\text{C}$). Токсин володіє великою стійкістю; навіть тривале зберігання зерна протягом декількох років не знижує його токсичності. При випіканні хліба з борошна, варінні каш, супів з крупою, отриманих з зараженого зерна, токсин не руйнується. Симптомами отруєння є крововиливи, некрози і порушення кровотворення.

2. "П'яна хвороба" хліба – отруєння, нагадує важке сп'яніння. Отруєння викликається використанням хліба та інших продуктів переробки зерна, уражених грибом *Fusarium*. Токсин, що виробляється цим грибом, відноситься до азотвмісних глюкозидів і виявляє дію на центральну нервову систему. Хоча отруєння зустрічаються рідко, але в зернопродуктах визначають вміст мікотоксинів.

3. Ерготизм. Виникає при вживанні виробів із зерна, зараженого ріжками. Останній являє собою склероції гриба **Claviceps purpurea**, що містять високотоксичні алкалоїди (ерготоксин, ерготамін, ергометрин) і біогенні аміни (гістамін, тирамін і ін). Ці з'єднання можуть вражати нервову систему (судомна форма) або нервово-судинний апарат (гангренозна форма). Отруйні сполуки ріжків стійкі при термічній обробці і зберіганні хлібопродуктів. Гігієнічні норми допускають вміст ріжків у борошні не більше 0,05%.

Токсикоінфекції – хвороби, збудники яких розмножуються у шлунково-кишковому тракті людини, викликаючи отруєння своїми компонентами і продуктами життєдіяльності, і утворюють ендотоксини. Харчові отруєння типу токсикоінфекцій виникають при вживанні в їжу продуктів, які містять велику кількість живих клітин токсигенних мікроорганізмів, що

розмножуються на цих продуктах. У шлунково-кишковому тракті людини ці клітини відмирають, вивільняється ендотоксин, який і є причиною отруєння. Харчові токсикоінфекції – найчастіше зоонозні бактеріальні інфекції з фекально-оральним механізмом передачі збудника. Вражається переважно шлунково-кишковий тракт. До токсичних мікроорганізмів належать патогенні бактерії родів *Salmonella*, *Escherichia*, *Proteus* й *Clostridium*. **Сальмонельоз**. Збудником захворювання є дрібні грамнегативні палички сімейства *Enterobacteriaceae* роду *Salmonella*. Відомі більше 2000 серотипів сальмонел, кількість їх щороку зростає. В організмі людини сальмонели утворюють ендотоксин.

Сальмонели є факультативними анаеробами з оптимальною для росту температурою 37°C; вони досить стійкі у зовнішньому середовищі: у воді відкритих водойм зберігаються від 11 до 120 днів, в ґрунті – до 140 днів, в кімнатному пилю – до 90 днів, у м'ясі і ковбасних виробках – від 60 до 130 днів, в замороженому м'ясі – від 6 до 13 міс, в молоці при кімнатній температурі – до 10 днів, у холодильнику – до 20 днів, у вершковому маслі – 52... 128 днів, в яйцях – до 13 міс, на яєчній шкаралупі – від 17 до 24 днів. При 70 °C сальмонели гинуть протягом 5... 10 хв, в товщі шматка м'яса (10см) витримують кип'ятіння протягом тривалого часу (до 2 год.). Відомі резистентні (госпітальні) штами сальмонел, які відрізняються підвищеною стійкістю до антибіотиків і фізико-хімічних факторів зовнішнього середовища, включаючи дезінфектанти.

Джерелом збудника є багато видів домашніх тварин і птахів (у тому числі і диких), які часто бувають тільки носіями сальмонел і не схильні до їх впливу. Тварини можуть виділяти збудник місяцями, хвора людина – від 3 днів до 3 тижнів.

Механізм передачі збудника – фекально-оральний, через харчові продукти тваринного походження (м'ясо, молоко, яйця), менше епідеміологічне значення мають риба і рибні продукти, а також продукти рослинного походження. Природна схильність людей до цього збудника висока, особливо у дітей в перші місяці життя і у людей похилого віку.

Провідна роль у профілактиці сальмонеллезів належить епідеміологічному нагляду та санітарно-гігієнічним заходам, спрямованим на знешкодження джерел, шляхів і факторів передачі збудника.

Розмноження сальмонел в харчових продуктах (салатах, вінегретах, студнях, ліверних і кров'яних ковбасах, рибопродуктах) не призводить до помітних змін їх органолептичних властивостей: зовнішній вигляд, смак і аромат зазвичай не змінюються. Виявити збудник можна тільки мікробіологічними методами аналізу.

Ешерихіози (колі-інфекція, коли-ентерит, діарея мандрівників). Збудниками є діареєгенні штами кишкової палички ***E. coli***, яка крім інфекції може викликати токсикоінфекції. Захворювання характеризується загальною інтоксикацією організму і дисфункцією кишечника. Особливо велика роль ***E.***

coli як збудника діареї (ешеріхіозів).

Патогенні **E. coli** стійкі у зовнішньому середовищі: у молоці зберігають життєздатність до 34 днів, в дитячих поживних сумішах – до 92 днів, на іграшках і предметах побуту – до 3... 5 міс. При температурі 60 °С гинуть через 10 хв, під струменем окропу – миттєво; 1%-ний розчин хлораміну, 1 ...2%-ний розчин хлорного вапна, 1%-ний розчин фенолу вбивають кишкову паличку за 15...30 хв.

Основним джерелом збудника є хвора людина. Механізм передачі збудника – фекально-оральний, через харчові продукти, воду, забруднені руки, іграшки і т.п. Природна сприйнятливість людей до цього збудника дуже висока, особливо серед новонароджених і ослаблених дітей.

Профілактичні заходи направлені на попередження захворювання дітей до 1 року. Основними правилами профілактики є суворе дотримання санітарно-протиепідеміологічного режиму, пастеризація або кип'ятіння молока і молочних сумішей. Хворі підлягають ізоляції. Обов'язковій госпіталізації підлягають особи, які працюють на підприємствах харчової промисловості та громадського харчування.

Протеї. Важливу роль як збудників харчової токсикоінфекції грають два види: **Proteus vulgaris** і **P. mirabilis**. Всі представники цього роду є факультативними анаеробами. Це грамнегативні палички із заокругленими кінцями, не утворюють спор і капсул, є перитрихами. Оптимальною для росту температурою є 37°C; добре ростуть на простих середовищах. Ліпополісахарид клітинної стінки протея, є найважливішим фактором патогенності, грає роль ендотосина.

Протеї зазвичай є сапрофітами гнильних паразитів, в невеликій кількості присутні в кишечнику людини і тварин, виявляються в стічних водах і ґрунті. Зараження найчастіше відбувається аліментарним шляхом, коли в організм людини з їжею потрапляє велика кількість протеїв. Іноді протеї виступають як збудники дисбактеріозу. Протеї стійкі у зовнішньому середовищі, добре переносять заморожування. При 60°C гинуть протягом 1 год, при 80 °С – протягом 5 хв.

Протеї викликають у людини різні захворювання, що частіше протікають за типом харчової токсикоінфекції, яка пов'язана з масовим руйнуванням протеїв в шлунково-кишковому тракті і всмоктуванням в кров. Ступінь тяжкості захворювання знаходиться в прямій залежності від кількості потрапивших в організм протеїв.

Профілактика зводиться до дотримання санітарно-гігієнічних правил і технологічного режиму заготівлі, приготування, зберігання та реалізації харчових продуктів.

Токсикоінфекції, викликані патогенними клостридіями. Збудниками є анаеробні спороутворюючі бактерії, що відносяться до роду *Clostridium*. Спори овальні або круглі, їх діаметр, як правило, перевищує діаметр клітини, тому паличка з спорою схожа з веретеном, звідки і її назва (*Clostridium* –

веретеноподібний).

Клостридії живуть тільки в умовах відсутності кисню, або при незначному його вмісті. Вони дуже широко поширені в природі: у ґрунті, особливо в глибоких шарах, мулі, різних водоймах, стічних водах, шлунково-кишковому тракті ссавців тварин, птахів, риб і людини.

Найбільш часто токсикоінфекції викликає вид **C. perfringens**, який зберігається роками в ґрунті у вигляді спор і виявляється майже у 100 % її зразків. Бактерії цього виду представляють собою товсті нерухомі грампозитивні палички.

Токсикоінфекції, що викликаються **C. perfringens**, як правило, пов'язані з вживанням в їжу м'ясних продуктів: котлет, приготовлених з готового м'ясного фаршу; вареного м'яса, що зберігалася при кімнатній температурі; холодних м'ясних закусок; пиріжків з лівером. Оптимальною для росту бактерій є температура 45°C (ростуть в діапазоні від 20 до 50°C). **C. perfringens** утворює екзотоксин. Розрізняють шість типів цього серологічного збудника: А, В, С, D, Е, F. Клостридії типу А викликають діарею, а також газові гангрени.

Ентерококи. Ці збудники токсикоінфекції належать до роду **Enterococcus**. Ентерококи – це факультативні анаероби, мають грампозитивні клітини кулястої форми, які ростуть у вигляді ланцюжків різної довжини, нерухомі, спор не утворюють. Деякі різновиди ентерококів є анаеробами. Ростуть при температурі 10...45°C, оптимальною для росту є температура 37°C.

Ентерококи входять до складу нормальної мікрофлори кишечника людини і теплокровних тварин. Широко поширені у природі: у ґрунті, воді, на рослинах.

Основним збудником токсикоінфекції є вид **E. faecalis** – мешканець кишечника людини. Бактерії цього виду володіють антагоністичними властивостями по відношенню до дизентерійних, черевнотифозних і паратифозних бактерій, а також до кишкової палички. Виявлення їх є одним з критеріїв фекального забруднення харчових продуктів і води.

E. faecalis росте на середовищі з 6,5 % NaCl. Витримує нагрівання до 60...65°C протягом 30 хв, при 80...85°C гине. Токсикоінфекції можуть бути викликані при вживанні будь-яких продуктів, інфікованих **E. faecalis**.

Токсикоінфекції, викликані **Bacillus cereus**. Важливу роль в етіології харчових отруєнь – токсикоінфекцій – грають патогенні бактерії **Bacillus cereus**.

Спочатку джерелом токсикоінфекції, обумовлених **B. cereus**, вважали кулінарні вироби, що містять картопляний крохмаль. Потім були описані спалахи токсикоінфекцій, викликаних **B. cereus**, при вживанні рослинних, м'ясних, м'ясорослинних, рибних та інших харчових продуктів. Особливо швидко **B. cereus** розмножується в подрібнених продуктах: фарші, котлетах, ковбасі, кремах.

При накопиченні **B. cereus** в продукті змінюються його органолептичні властивості: на поверхні утворюється сіренька плівка, змінюються колір і

запах.

Діапазон температур для росту 10...+45 °С. Оптимальною є температура 35 ...+45°С. Одні штами на середовищі з крохмалем і залізом утворюють червоний пігмент, інші на різних середовищах – флуоресціюючі жовтувато-зеленого кольору пігменти. Основними місцями проживання є ґрунт, вода, рослинні субстрати. **B. cereus** росте на середовищі з 10... 15% NaCl і 30... 60 % цукру. В харчових продуктах з рН нижче 4 не розвивається. Спори **B. cereus** володіють високою термостійкістю і можуть зберігатися в продукті не тільки при звичайній тепловій кулінарній обробці, але і при стерилізації консервів.

Зараження людини найчастіше відбувається при вживанні рослинних і м'ясних продуктів (25%), молока (40...55%), а також інших харчових продуктів, заражених **B. cereus**. Кількісний вміст **B. cereus** в харчових продуктах сягає 10^5 ... 10^6 клітин і більше 1 г.

Основою профілактики є запобігання проростання збережених спор у харчових продуктах. Харчові продукти, що пройшли теплову обробку, потрібно швидко охолоджувати до температури нижче 10°С і зберігати на холоді.

5. Профілактика харчових захворювань, що викликаються патогенними мікроорганізмами

Головним завданням харчової промисловості, закладів громадського харчування є забезпечення постачання населення високоякісною і безпечною для здоров'я їжею. Для цього проводиться комплекс ветеринарних і санітарногігієнічних заходів, спрямованих на запобігання харчових захворювань (інфекційних та отруєнь).

Причиною харчових захворювань найчастіше є порушення санітарних правил і технологічного режиму виготовлення, а також термінів і температурних режимів зберігання, транспортування та реалізації харчових продуктів.

Найважливішими профілактичними заходами є наступні:

- систематичний ветеринарно-санітарний нагляд за забійними тваринами, умови забою худоби, первинної обробки і оброблення туш; суворе дотримання встановленого рівня санітарно-гігієнічного режиму утримання підприємств харчової промисловості, громадського харчування. При цьому особливо важливе значення мають виконання гігієнічних вимог, запобігання інфікування мікроорганізмами ззовні перероблюємої сировини і напівфабрикатів, дотримання технологічного режиму підготовки сировини і її теплової обробки, дотримання умов зберігання, транспортування і реалізації продуктів, що виключають розмноження в них мікробів і повторне обсіменіння, недопущення стикання продуктів, що пройшли теплову обробку, з сирими (особливо м'ясними) продуктами;

- систематична боротьба з гризунами і мухами, захист від них харчових продуктів;

- виконання гігієнічних вимог до утримання приміщень, обладнання, інвентарю, посуду і тари у закладах громадського харчування, на підприємствах харчової промисловості;
- періодична санітарна обробка приміщень для зберігання продуктів, холодильних камер, тари, стелажів та інших предметів;
- систематичне проведення санітарно-освітньої роботи серед персоналу підприємств харчової промисловості, закладів громадського харчування;
- суворе дотримання персоналом правил особистої гігієни, підвищення санітарної культури;
- боротьба з бацилоносіями збудників харчових захворювань серед людей, що безпосередньо контактують з харчовими продуктами, шляхом періодичного медичного огляду, відсторонення від роботи бацилоносіїв, осіб з гнійничковим ураженням шкіри, катаром верхніх дихальних шляхів і хворих на туберкульоз;
- механізація і автоматизація виробничих процесів, які не тільки полегшують працю і знижують собівартість, але і підвищують санітарну якість продукції і стан харчового підприємства;
- удосконалення методів фасування й упакування продуктів безпосередньо на промислових підприємствах, що виключає контакт (дотик) персоналу мережі розподілу з продуктами і запобігає вторинному інфікуванню їх мікробами;
- систематичний санітарно-мікробіологічний контроль сировини, що переробляється, напівфабрикатів, готової продукції, санітарного стану технологічного обладнання та інвентарю.

Мікробіологічний контроль дозволяє виявити присутність у продуктах і на інших об'єктах збудників харчових захворювань, а також виявити неблагополучні в санітарному відношенні етапи технологічного процесу.

Мікробіологічні методи досліджень продуктів, які встановлюють ступінь їх обсіменіння мікробами, склад мікрофлори і зміна цих показників у період зберігання продуктів дозволяють виявити початок зміни якості продуктів, прогнозувати можливі терміни їх зберігання у заданих умовах, своєчасно реалізувати продукти.

ЛЕКЦІЯ 9

Тема 9. Перетворення мікроорганізмами сполук азоту

1. Кругообіг азоту в природі. Амоніфікація
2. Нітрифікація. Денітрифікація.
3. Фіксація молекулярного азоту мікроорганізмами.
4. Імобілізація азоту

1. Кругообіг азоту в природі. Амоніфікація

Азот — основний елемент, що визначає величину врожаю сільськогосподарських культур. Рослинам недоступний газоподібний азот, що у величезній кількості, що перебуває в повітрі. З великої різноманітності з'єднань азоту, що зустрічаються в ґрунті, вони можуть використовувати для харчування в основному тільки мінеральні форми цього елемента.

Більшу частину азоту біосфери становить молекулярний азот N_2 на долю якого припадає до 80% усіх молекул повітря. Молекулярний азот атмосфери не може засвоюватися більшістю вищих рослин. Ці рослини можуть використовувати для свого живлення переважно мінеральні сполуки цього елемента, які знаходяться у ґрунті. Однак існує велика група ґрунтових вільноживучих і симбіотичних мікроорганізмів, які, завдяки наявності у них нітрогеназної системи мають здатність засвоювати молекулярний азот атмосфери.

У природі постійно відбувається кругообіг азоту, в якому беруть участь рослини, тварини і мікроорганізми. Це досить складний процес і його можна поділити на чотири етапи.

1. Органічні рештки рослинних і тваринних організмів, які потрапляють у ґрунт, розкладаються (мінералізуються) амоніфікуючими мікробами, актиноміцетами та пліснявими грибами і перетворюються на амонійні сполуки — аміак та інші.

2. Амонійна форма азоту в ґрунті далі окислюється нітрифікуючими бактеріями і перетворюється на сполуки азотистої і азотної кислот (нітрити і нітрати). Інтенсивність утворення нітратів у ґрунті залежить від його аерації. Чим краще відбувається обмін повітря, тим більше утворюється нітратів і навпаки.

3. За певних умов нітрати і нітрити під впливом денітрифікуючих бактерій можуть відновлюватися до молекулярного азоту (денітрифікація), в результаті чого зберігається відносна рівновага між вмістом молекулярного азоту в атмосфері і зв'язаним азотом ґрунту, рослин і тварин.

4. Фіксація атмосферного азоту ґрунтовими мікроорганізмами (*Azotobacter*, *Clostridium*, *Rhizobium*, ціанобактерії)

Отже, коли зіставити кількість амонійного, нітритного і нітратного азоту, який потрапляє в ґрунт у результаті фотохімічних процесів і електричних розрядів в атмосфері, з тією кількістю, що вноситься в ґрунт завдяки його фіксації мікроорганізмами, то стає зрозумілою виняткова

важливість цього процесу на нашій планеті. Адже загальна продуктивність мікробної фіксації азоту становить від 270 до 330 млн т на рік.

Амоніфікація. Це найбільш динамічна ланка при перетворенні сполук азоту. При позаклітинних перетвореннях кінцевим продуктом є амінокислоти. В процесі беруть участь протеази мікроорганізмів і рослин. Далі амінокислоти або надходять до клітин мікроорганізмів, або адсорбуються на ґрунтових частках. При внутрішньоклітинних перетвореннях відбувається декарбоксилювання та дезамінування. Останній шлях призводить до вивільнення аміаку. В процесі амоніфікації, крім бактерій, беруть участь актиноміцети і гриби.

Амоніфікацію білків зумовлюють різні види аеробних і анаеробних мікроорганізмів. Особливо активними амоніфікаторами є представники роду *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. cereus*, *B. mycoides*), *Pseudomonas* (*P. fluorescens*, *P. aeruginosa*), *Clostridium* (*C. sporogenes*, *C. putrificus*), *Proteus vulgaris* та інші.

Разом з бактеріями активну участь в амоніфікації білкових речовин беруть ґрунтові гриби й актиноміцети – *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Trichoderma*, *Cladosporium* тощо. Оскільки амоніфікацію білків спричиняють різні групи мікроорганізмів, то вона може відбуватися в широкому інтервалі кислотності

Процесу амоніфікації піддаються не тільки білки, а й їхні похідні – пептони, пептиди, амінокислоти, а також нуклеїнові кислоти та їхні похідні – пуринові і піримідинові основи, сечовина, сечова кислота, складний азотовмісний цукор хітин і гумусові кислоти.

При амоніфікації білків в анаеробних умовах можуть утворюватися і токсичні речовини, наприклад, діаміни, до яких належать кадаверин і путресцин.

2. Нітрифікація. Денітрифікація.

Нітрифікація є другим етапом перетворення азоту у ґрунті. Це мікробіологічний процес окислення аміаку, що утворився під час амоніфікації, до азотистої кислоти або її солей (нітритів), а далі до азотної кислоти та її солей (нітратів). Відбувається в аеробних умовах у ґрунті та природних водах. Часто може викликати появу в них нітратів у токсичній кількості, а оскільки нітрати – найбільш активно мігруюча в розчині сполука азоту – їх винесення з ґрунту в розташовані нижче по схилу водоймища, що спричиняє за собою евтрофікацію цих водоймищ.

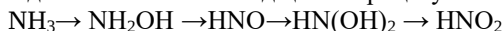
У 1890-1892 рр. С.М. Виноградський, застосувавши розроблену ним методику елективних культур, виділив чисту культуру бактерій цього процесу. До дослідів С. М. Виноградського припускалось, що причиною нітрифікації є один вид мікроорганізмів, які окислюють амонійні сполуки до нітратів. Проте працями С. М. Виноградського було доведено, що цей процес є результатом послідовної дії двох груп мікроорганізмів і відбувається він у дві фази.

Перша фаза – окислення аміаку до азотистої кислоти (вірніше, її аніону),

яку здійснюють нітрозобактерії *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosospira*, *Nitrosolobus*, *Nitrosovibrio* за наступним механізмом:



Однак схематичний хід цього процесу описує такий цикл реакцій:



При цьому також виділяється енергія, що складає основу розвитку нітрифікуючи мікроорганізмів та засвоєння ними вуглецю з вуглекислого газу.

Друга фаза – окислення аніону азотистої кислоти до аніону азотної, що здійснюється нітратними бактеріями (народи *Nitrobacter*, *Nitrospira*, *Nitrosococcus*).



Поряд з окисленням аміаку до азотистої кислоти в культурах нітрифікуючи мікроорганізмів йде відновлення вуглекислоти, на що затрачається близько 7% виділеної енергії.

Обидві групи бактерій є облигатними аеробами, оптимальна для їх розвитку температура 25-30 градусів за Цельсієм і рН 7,5-8,0. У кислому середовищі процес не йде. Усі ці бактерії – грамнегативні автотрофи (літотрофи), що використовують енергію окислення сполук азоту для синтезу органічних речовин з вуглекислого газу. Морфологічно ці групи різноманітні, у більшості своїй дрібні, рухомі, з полярним або перитрихальним джгутикованням. Окислення аміаку проводять на цитоплазматичній мембрані. Звільнені в ході реакцій електрони переходять у дихальний ланцюжок на цитохроми.

Вважають, що великі поклади селітри в деяких країнах – результат процесів нітрифікації, які відбувалися на нашій планеті протягом мільйонів років.

У різних ґрунтах інтенсивність процесів нітрифікації є різною. Чим багатший ґрунт, тим більше може нагромаджуватися азотної кислоти. Проте не слід забувати, що солі азотної кислоти (нітрати), на відміну від амонійних (іон амонію поглинається ґрунтовим комплексом), можуть легко вимиватися з ґрунту, а це істотно впливає на зниження коефіцієнта використання нітратів рослинами.

Крім того, в самій рослині нітрати повинні відновитися, щоб рослина змогла використати їх у процесах біосинтезу, а для цього потрібна енергія; амоній може використовуватися рослинами й безпосередньо. Все це змушує дослідників вирішувати питання про штучне зниження інтенсивності процесу нітрифікації завдяки використанню специфічних інгібіторів.

Денітрифікація. Денітрифікація – процес відновлення нітратів у ґрунті до молекулярного азоту в анаеробних умовах. Він спричиняється до істотних втрат із ґрунту доступних для рослин форм азоту.

Пряма денітрифікація, здійснюється групою факультативно-анаеробних мікроорганізмів – денітрифікаторів. Вона буває двох типів – асиміляторна і дисиміляторна. При асиміляторній денітрифікації нітрати

відновлюються до аміаку, який використовується як джерело азоту для побудови тіла мікробів. У дисиміляторній денітрифікації нітрати використовуються як окислювачі органічних речовин замість молекулярного кисню, що забезпечує мікроорганізми потрібною енергією. Здатність до дисиміляторної денітрифікації мають тільки специфічні аеробні бактерії.

Збудниками прямої асиміляторної денітрифікації є представники родів *Pseudomonas*, *Paracoccus* (*Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas stutzeri*, *Paracoccus denitrificans*). Денітрифікацію можуть зумовити і термофільні бактерії з роду *Bacillus*.

Найбільше інтенсивно денітрифікація йде в ґрунтах з високою вологістю й поганою аерацією, що є однією з основних причин втрати із ґрунту мінерального азоту й зниження коефіцієнта використання рослинами азотних добрив.

Денітрифікатори широко поширені в ґрунтах і в ризосфері рослин, у т.ч. і винограду, тому для зниження денітрифікації в ґрунті необхідна гарна аерація, зменшення вологості в певні періоди (дренаж) і створення умов для кращого споживання нітратів ґрунту рослинами.

3. Фіксація молекулярного азоту мікроорганізмами.

Запаси газоподібного азоту в атмосфері величезні: над кожним квадратним кілометром земної поверхні в повітрі міститься близько 8 млн т азоту. Проте цей азот ні для рослин, ні для тварин недоступний. Лише деякі мікроорганізми, які вільно живуть у ґрунті або перебувають у симбіозі з рослинами, можуть засвоювати азот безпосередньо з повітря і будувати з нього білкові сполуки свого тіла.

Однак існують азотфіксуючі мікроорганізми, здатні засвоювати молекулярний азотом і будувати з нього азотовмісні органічні сполуки своєї клітини. Ці мікроорганізми вільно живуть у ґрунті або перебувають у симбіозі з рослинами. Азотфіксуючі мікроорганізми обумовлюють підвищення родючості ґрунту, і їх вивченню приділяється велика увага. Рациональне використання біологічної фіксації молекулярного азоту дає можливість суттєво підвищити врожай і ощадливіше витрачати мінеральні азотні добрива.

Чисту культуру азотфіксуючого мікроорганізму вперше виділив С. М. Виноградский (1893). Це була анаеробна спороутворююча паличка, названа *Clostridium pasteurianum*. Трохи пізніше голландський мікробіолог М. Бейерінк (1901) відкрив *Azotobacter chroococcum* – аеробну бактерію, також здатну засвоювати молекулярний азот.

Відомо два основних природних шляхи зв'язування молекулярного азоту – фізико-хімічний і біологічний. Перший пов'язаний з впливом на молекулярний азот електричних розрядів, які бувають під час грози. Кількість зв'язаного таким чином азоту незначна і не відіграє великої ролі в живленні рослин.

Другий шлях фіксації молекулярного азоту пов'язаний з

життєдіяльністю мікроорганізмів, що належать до двох груп: мікроби, які перебувають у симбіозі з рослинами, та азотфіксатори, що вільно живуть у ґрунті та воді.

Симбіотична фіксація азоту. Бульбочки утворюються тільки у представників родини бобових (Fabaceae). У різних рослин бульбочки розрізняються тільки за формою і величиною. Утворюються вони після проникнення в кореневу систему бульбочкових бактерій.

Численні дослідження показали, що бульбочкові бактерії відрізняються між собою, а тому рід *Rhizobium* треба розглядати як групу споріднених мікроорганізмів. У молодому віці ці бактерії рухливі, мають паличкоподібну форму, завдовжки від 1,2 до 3 мкм, розміщення джгутиків в одних видів перетрихальне, в інших – субполярне. Бульбочкові бактерії є грамнегативними, неспороносними аеробними організмами.

Старіючи, бульбочкові бактерії втрачають джгутики, перестають бути рухливими і набувають вигляду оперезаних паличок, оскільки з віком бактеріальна клітина наповнюється жировими включеннями, які не забарвлюються. Зі старінням у бульбочках культури *Rhizobium* часто виникають потовщені, розгалужені, сферичні та іншої форми утворення, які значно більші за звичайні клітини. Ці поліморфні утворення дістали назву бактероїдів. Вони нерухомі і не здатні до розмноження. Проте найбільш енергійно відбувається засвоєння азоту в бульбочках саме тоді, коли бульбочкові бактерії перетворюються на бактероїди.

Встановлено, що бульбочкові бактерії можуть заражати лише певну групу бобових рослин. Вибіркова здатність цих бактерій відносно рослин дістала назву специфічності. Ця властивість стала головною ознакою для розробки систематики бульбочкових бактерій.

Істотною властивістю бульбочкових бактерій є також їхня активність, тобто здатність у симбіозі з рослинами асимілювати молекулярний азот. У ґрунті трапляються штами активних і неактивних бульбочкових бактерій. Зараження бобових рослин активною расою бактерій веде до утворення великої кількості бульбочок на головному корені та зумовлює енергійний процес фіксації атмосферного азоту. Неактивні раси цих бактерій спричиняють утворення бульбочок, але азот не фіксується.

Бульбочки, які утворюються активними расами бактерій, мають рожеве забарвлення. Пігмент, що надає їм такого забарвлення, за хімічним складом близький до гемоглобіну крові та називається леггемоглобіном (фітоглобін). Вважають, що цей пігмент сприяє процесу засвоєння азоту, підтримуючи окислювально-відновний потенціал на певному рівні. Бульбочки, які утворюють неактивні раси бактерій, мають зеленкуватий колір. Механізм проникнення бактерій у кореневий волосок досі ще недостатньо вивчено. Встановлено, що на поверхні клітинної оболонки бобових рослин є особливий вид білка, до якого вибірково «приклеюються» специфічні бульбочкові бактерії завдяки наявності в їхній оболонці специфічного ліпополісахариду.

Після проникнення бактерій у клітину кореневого волоска вони починають посилено розмножуватись і утворюють суцільний тяж, так звану інфекційну нитку (слизовий тяж), в якій скупчується величезна кількість бульбочкових бактерій. Останні можуть розмножуватися тільки в тетраплоїдних клітинах рослин.

Транспорт азотовмісних речовин із бульбочок у рослину здійснюється у формі амінокислот. Незначна кількість засвоєного рослиною азоту виділяється внаслідок екзоосмосу коренями в ґрунті переважно у вигляді аспарагінової кислоти.

Після відмирання і розкладу бульбочок бактерії потрапляють у ґрунт і живуть там як сапрофіти, поки знову не проникнуть у корені рослин. Питання про те, що лежить в основі взаємовідносин бактерій і бобових рослин (паразитизм чи співжиття), ще повністю не з'ясовано. Важливим є той факт, що бульбочкові бактерії, проникаючи в рослину, стимулюють розвиток у неї імунітету, який перешкоджає подальшому зараженню коренів.

Бульбочки можуть утворюватися не тільки на коренях рослин, а й на інших органах. Їх знайдено на листках майже 400 різних видів рослин, наприклад деяких дводольних тропічних, зокрема у павети (*Pavetta indica* L.) із родини маренових (*Rubiaceae*). Найдокладніше досліджено такі бульбочки у рослин павети і психотрії.

Вільноживучі азотфіксатори. Крім бульбочкових бактерій, у ґрунті є багато інших видів мікроорганізмів, які можуть засвоювати молекулярний азот атмосфери. В 1893 р. С. М. Виноградський вперше виділив і вивчив вільноживучий азотфіксатор – анаеробну спороносну бактерію веретеноподібної форми, яку було названо на честь Л. Пастера – *Clostridium pasteurianum*.

Описано багато азотфіксаторів з роду *Clostridium* (*C. butyricum*, *C. acetobutylicum*, *C. pectinovorum*, *C. felsineum*, *Cl. beijerinckii* та ін.). Ці бактерії можуть використовувати різні джерела азоту: солі амонію і азотної кислоти, а також багато різних органічних азотовмісних сполук. Із вуглецевих сполук вони використовують моноцукри, дицукри, поліцукри, органічні кислоти тощо.

Енергійним фіксатором азоту серед цієї групи бактерій є *Clostridium pasteurianum*. Він може зв'язувати до 10-12 мг азоту на 1 г збродженого цукру.

Серед представників азотобактера найґрунтовніше вивчено *A. chroococcum*, *A. vinelandii*, *A. agilis*, *A. beijerinckii*. Ці види різняться за формою і розмірами клітин, пігментацією колоній.

На відміну від клостридій азотобактер інтенсивніше зв'язує молекулярний азот. Активні культури азотобактера зв'язують 15-20 мг азоту на 1 г використаного цукру або іншої органічної речовини. Він не засвоює клітковини. Однак при наявності її в ґрунті розмножується більш інтенсивно, оскільки між целюлозорокладачами і азотобактером існує явище метабіозу. Азотобактер потребує нейтрального середовища. В кислих ґрунтах він не

розвивається. Близькі до азотобактера вільноживучі азотфіксатори з роду *Beijerinckia*. На відміну від азотобактера, вони можуть рости навіть при $\text{pH} = 3$. Ці бактерії мають різну форму, бувають рухливими і нерухливими; за енергією фіксації азоту вони близькі до азотобактера.

Останніми роками вчені різних країн приділяють велику увагу вивченню процесу фіксації азоту мікроорганізмами, які містяться на корінні і в прикореневій зоні небобових рослин. Ці мікроби дістали назву ризосферних, а процес зв'язування ними молекулярного азоту називається асоціативною азотфіксацією.

Азотфіксуюча активність виявлена у представників багатьох родів ризосферних бактерій: *Agrobacterium*, *Achromobacter*, *Aquaspirillum*, *Azospirillum*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Enterobacter*, *Erwina*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhodospirillum* та ін.

4. Імобілізація азоту.

За певних умов наявні в ґрунті мінеральні форми азоту внаслідок бурхливого розвитку мікрорганізмів споживаються ними й переводяться в білок цитоплазми. Подібний процес, називаний імобілізацією азоту, спостерігається, наприклад, при внесенні в ґрунт значної маси соломи. У результаті імобілізації азоту використання його рослинами помітно знижується, що приводить до зменшення врожаю. Таким чином, імобілізація являє собою процес зворотний мінералізації.

Встановлено, що перетворення азотовмісних сполук по шляху мінералізації або імобілізації повністю визначається співвідношенням азоту й вуглецю в органічній речовині, внесений в ґрунт. Якщо субстрат має низьке співвідношення С до N то при його розкладанні накопичується аміак, тому що мікроорганізмів не вистачає вуглецевмісних з'єднань для асиміляції азоту.

При внесенні в ґрунт маси, багатої вуглеводами й бідної азотом, відбувається споживання мінерального азоту. Наприклад, у солоній зернових культур співвідношення С до N наближається до 100:1. Внаслідок внесення її в ґрунт відбувається «біологічне закріплення» мінерального азоту.

Швидкість і кількість асимільованого мікробами азоту зв'язані також і з типом вуглецевмісного з'єднання. Так, глюкоза, легко асимілюється мікроорганізмами, і може викликати значно більш швидке закріплення азоту, ніж целюлоза або лігнін, що дуже важко руйнується мікроорганізмами.

Імобілізація неорганічного азоту має важливе агрономічне значення. Так, удобрення зернових культур рослинними рештками, що бідні на азот, небажане, тому що це погіршує азотне живлення рослин. Ці добрива можна вносити в ґрунт лише з додаванням відповідних доз азотних добрив, що дає гарний результат. З іншого боку, в осінню пору року імобілізація може бути корисною, тому що нітрати й аміак зв'язуються й не витрачаються в результаті взимку. Навесні азот, зв'язаний у мікробній клітині, мінералізується й перетворюється в аміак і нітрати, які потім можуть бути використані

рослинами. Таким чином, пора року визначає корисність або шкідливість процесу іммобілізації.

Бобові рослини, що фіксують у симбіозі з бактеріями атмосферний азот, не відчувають депресії від внесення добрив, багатих на клітковину. Навпаки, вони підвищують їхній урожай і сприяють кращому азотонакопиченню.

ЛЕКЦІЯ 10

Тема 10. Мікробіологія природного середовища перебування мікроорганізмів

1. Санітарно-мікробіологічні дослідження об'єктів навколишнього середовища.

2. Мікробіологія ґрунту.

3. Мікробіологія води.

4. Мікробіологія повітря

1. Санітарно-мікробіологічні дослідження об'єктів навколишнього середовища

Санітарно-мікробіологічні дослідження об'єктів навколишнього середовища (води, повітря, ґрунту), а також харчових продуктів повинні перш за все вирішувати питання про наявність або відсутність в них патогенних для людини мікроорганізмів: бактерій, вірусів і грибів. Проте безпосереднє виявлення їх в об'єктах навколишнього середовища пов'язане з низкою труднощів. Тому санітарна мікробіологія використовує свій особливий, непрямий спосіб оцінки санітарного благополуччя об'єктів зовнішнього середовища, заснований на тому, що головним джерелом збудників інфекційних хвороб є люди і теплокровні тварини, що виділяють патогенні мікроорганізми в зовнішнє середовище, головним чином фекальним і повітряно-краплинним шляхом: чим інтенсивніше забруднені об'єкти зовнішнього середовища цими виділеннями, тим ймовірніше, що ці об'єкти заражені і відповідними патогенами.

Для багатьох видів мікроорганізмів кишечник є біотопом, тобто єдиною природним місцем їх проживання. Отже, виявлення в досліджуваному матеріалі (харчовому продукті) представників мікрофлори кишечника є безпосереднім доказом фекального забруднення об'єкта і вказує на можливу присутність в ньому збудників кишкових інфекцій (черевного тифу, холери і т.п.). Виділені в цих випадках мікроорганізми виступають в ролі показників санітарного неблагополуччя, тобто потенційної епідеміологічної небезпеки досліджуваних об'єктів, тому вони отримали назву санітарно-показових.

Проте в якості таких виступають тільки ті мікроорганізми, які відповідають певним вимогам, тобто вони повинні постійно міститися у виділеннях людини і виділятися навколишнє середовище у великих кількостях; мати тільки одне природне джерело – людину; зберігати

життєздатність в навколишньому середовищі, але без активного там розмноження; бути типовими і легко диференційованими. Методи виявлення, ідентифікації та кількісного врахування таких мікроорганізмів повинні бути сучасними, простими, легкодоступними. Найбільш важливими показниками фекального забруднення харчових продуктів у всьому світі визнаються бактерії групи кишкової палички (БГКП). Під цим загальним поняттям об'єднуються бактерії сімейства Enterbacteriaceae, родів *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*. Це грамнегативні, не спороутворюючі палички, які не володіють окисдажною активністю, ферментуючі лактозу і глюкозу до кислоти і газу при температурі 37°C протягом 24 год і виділяються в навколишнє середовище тільки з випорожненнями людини і теплокровних тварин.

Серед БГКП виділяють лактозопозитивні, або коліформні (за міжнародною класифікацією) палички, які ферментують лактозу при температурі 37°C з утворенням кислоти і газу. З цієї групи виділяють фекальні кишкові палички

(ФКП), ферментуючі лактозу при температурі 44,5°C. До них відносять *E. coli* – бактерії, які не здатні рости на середовищі, що містить в якості єдиного джерела вуглецю і енергії цитрат (солі оцтової кислоти). Саме ці бактерії є показниками свіжого фекального забруднення.

До показників фекального забруднення відносять крім БГКП ентерококи (різновид *E. faecalis*), клостридії (*Cl. perfringens*), бактерії роду *Proteus* й поліфаги.

Для оцінки санітарно-гігієнічних показників безпеки об'єктів зовнішнього середовища (грунту, води і повітря, продовольчої сировини і харчових продуктів) використовуються уніфіковані методи аналізу, передбачені відповідними нормативними документами, ДСТУ, ТУ, методичними вказівками та іншими актами санітарного законодавства країни.

2. Мікробіологія ґрунту

Ґрунт – середовище розвитку численних видів мікроорганізмів і найбільший резервуар їх в природі. Велика роль мікроорганізмів і у формуванні самого ґрунту. Завдяки їм він набуває властивість живої системи. Кількість мікроорганізмів у 1 г ґрунту зазвичай вимірюється сотнями мільйонів клітин. Кількість їх коливається від 200 млн до 5 млрд в 1 г земного ґрунту. У 1 г орного шару ґрунту міститься 1... 10 млрд, а в його шарі товщиною 15 см на площі 1 га може утриманні від 1 до 5...6 т мікробної маси. Навіть у пісках пустель, де майже відсутня волога, міститься до 100 000 клітин мікроорганізмів в 1 г.

Мікроби в ґрунті розподілені нерівномірно. Їх більше і в верхніх шарах і поблизу рослин. Кількості і видовий їх склад в ґрунті залежать від вмісту в ньому органічних речовин і вологи, структури ґрунту, способу його сільськогосподарської обробки, кліматичних умов, характеру рослинного покриву, ступеня забруднення ґрунту відходами господарської діяльності

людини і багатьох інших факторів. На початку літа і восени кількість мікроорганізмів зростає, в інший час зменшується.

На глибині 5...6 м в ґрунті вже може не бути мікроорганізмів. Проте таке буває не скрізь. Наприклад, у штаті Південна Кароліна (США) мікроорганізми виявили на глибині 225 м, серед яких були невідомі науці.

До складу мікробного населення ґрунту входять представники всіх груп мікроорганізмів: бактерії, гриби, найпростіші, водорослі, віруси.

Серед мікрофлори ґрунту кількісно переважають бактерії. Сюди входять автотрофи і гетеротрофи, збудники багатьох процесів: аммоніфікації, нітрифікації, денітрифікації, фіксації азоту, перетворення заліза і сірки, інших елементів, що підвищує біологічну активність і плодючість ґрунту.

Забруднення ґрунту патогенними мікроорганізмами. Ґрунт постійно забруднюється різними паразитами, виділеннями людини і тварин, мертвими рослинами і тваринами. Патогенні мікроорганізми потрапляють в ґрунт з випорожненнями, сечею, гноєм, мокротинням, слиною і іншими виділеннями, трупами людей і тварин, загиблих від інфекційних захворювань.

Потрапляючи в ґрунт, значна частина патогенних мікроорганізмів, що не утворюють спор, гинуть. Терміни виживання в ґрунті збудників кишкових інфекцій (дизентерії, черевного тифу, чуми, холери, бруцельозу, туляремії, туберкульозу) становлять від декількох годин до декількох місяців. Значно довше зберігаються в ґрунті спороутворюючі патогенні бактерії. Їх спори зберігаються в ґрунті багато років, при сприятливих умовах проростають, в результаті чого бактерії знову розмножуються. Таким чином, земля є основним джерелом збудників цих захворювань. Широко поширені в ґрунті і гриби. Наприклад, базидіоміцети, частіше зустрічаються в лісових ґрунтах, де разом з вищими рослинами утворюють мікоризу (грибокорінь). Плісняві гриби більш поширені у кислих, багатих органічною речовиною і добре аеруючих ґрунтах. Дріжджі зустрічаються рідко. Найбільша кількість грибів знаходиться в поверхневому шарі на глибині 5...20 см, деякі виявляються на глибині 80 см. У поверхневому шарі землі біомаса грибів досягає 100 кг на 1 га. У північних районах у ґрунтах частіше зустрічаються мукові і пеніцилові, а в південних – аспергілові гриби. Гриби розщеплюють до 50 % клітковини. Для деяких грибів єдиним джерелом вуглецю служить лігнін. Гриби грають важливу роль в утворенні гумусу, підвищують родючість ґрунту оскільки земля може бути передавачем збудників багатьох інфекційних захворювань, забруднення харчових продуктів частками ґрунту представляє епідеміологічну небезпеку.

Санітарна оцінка ґрунту. При санітарній оцінці ґрунту враховують результати хімічного, гельмінтологічного і мікробіологічного аналізів. При мікробіологічному дослідженні ґрунту в залежності від поставленого завдання застосовують короткий або повний санітарно-бактеріологічний аналіз. Короткий аналіз ґрунту передбачає визначення двох мікробіологічних показників: КМАФАнМ або загальна кількість бактерій і колі-титр. Повний аналіз включає в себе визначення КМАФАнМ, колі-титру, а також індекс

БГКП, протеїв. Показник КМАФАнМ чистого ґрунту не перевищує 1,5 КУО/г, в забрудненому ґрунті він у кілька разів більший. Наявність у ґрунті БГКП свідчить про його забруднення. Виявлення в ґрунті протеїв свідчить про його забруднення органічними речовинами тваринного походження або фекаліями людей. Термофільні мікроорганізми визначаються показниками забруднення ґрунту гноєм. В чистих ґрунтах термофіли не виявляються.

3. Мікробіологія води

Вода є дорогоцінним даром природи, яка створює життя там, де його не було. Вода – основа розвитку землеробства, енергетики, рибного господарства, без неї неможливі побут і дозвілля людини.

Вода – рідина без кольору, запаху і смаку. Людина тижнями обходиться без їжі, а без води – тільки пів дня.

Кількість і склад мікроорганізмів у воді. Як і земля, вода є природним середовищем існування для різних видів мікроорганізмів, які розвиваються як у воді відкритих водойм, так і в ґрунтових водах; багато видів бактерій мешкають в морських водах. Кількість мікроорганізмів у воді визначається головним чином вмістом у ній органічних речовин. В 1 мл води кількість клітин мікроорганізмів може перевищувати кілька мільйонів.

До складу мікроорганізмів води входять різні водорості, найпростіші, плісняві гриби, фаги та інші мікроорганізми. Між ними існують складні взаємини. Наприклад, хлорелла при масовому розвитку на світлі викликає появу кишкової палички. Одна інфузорія здатна поглинути 30 тис. мікробних клітин. Патогенні мікроорганізми гинуть в забрудненій воді і повільніше – у чистій.

За своїм походженням вода підрозділяється на атмосферну (дощова, снігова), поверхневу (річкова, озерна, морська) і підземну (ґрунтова, колодязна, ключова).

Атмосферна вода містить мало мінеральних речовин, але вона м'яка, позбавлена смаку, служить середовищем для розвитку багатьох мікроорганізмів. Кількість мікробів в ній, що потрапляють разом з пилом, невелика: в 1 мл – 300...400 клітин. Однак після тривалого надходження атмосферних опадів на поверхні землі кількість клітин мікробів швидко зростає.

Поверхнева вода, наприклад річкова, містить різну кількість клітин мікроорганізмів в залежності від пори року, її джерел, території, по якій тече річка. Навесні і восени, в період повеней і дощів, коли у воді міститься багато органічної речовини, кількість мікроорганізмів серед яких можуть бути і патогенні, різко зростає. З берегів, де колись були поховані трупи хворих тварин з лугів і пасовищ можуть потрапляти у воду спори збудника сибірської виразки та інших інфекційних хвороб, що має загрозу для тварин і людини.

Санітарна оцінка води. Питна вода вважається доброю, якщо показник КМАФАнМ не перевищує 100 КОЕ/мл, сумнівною – при 100... 150 КОЕ/мл,

забрудненою – при 500 КОЕ/мл і більше. Колі-титр питної води з водопроводу повинен бути не менше 300 мл, з колодязів – не менше 100 мл.

Колі-індекс (кількість кишкових паличок в 1 л води) у водопровідній воді повинен бути не більше 3, в колодязях – не більше 10.

4. Мікробіологія повітря.

Повітря як середовище для мікроорганізмів менш сприятливе, ніж земля і вода, оскільки в ньому міститься дуже мало чи не міститься зовсім поживних речовин, необхідних для розмноження мікроорганізмів. Тим не менше, потрапляючи в повітря, багато мікроорганізмів можуть зберігатися в ньому більш або менш тривалий час.

Мікроби в повітрі розподілені нерівномірно. У запыленому і брудному повітрі мікробів більше, ніж в чистому, так як вони адсорбуються на поверхні твердих частинок. Повітря особливо забруднене поблизу земної поверхні, а з висотою воно стає все більш чистим. У повітрі центру міста мікроорганізмів більше, а на околицях менше. Влітку мікробів в повітрі міститься більше, взимку менше.

Мікроби виявлені навіть в хмарах. На великих висотах зустрічають мікроорганізми, що утворюють пігменти, що підвищує їх стійкість до несприятливих умов життя, особливо до ультрафіолетових променів. Вище 84 км над рівнем моря мікроби не виявляються.

Кількість і склад мікроорганізмів в повітрі. У повітрі у природних умовах виявляються сотні видів сапрофітних мікроорганізмів, представлених коками (у тому числі сарцинами), споровими бактеріями і грибами, що відрізняються великою стійкістю до висушування (сонячні промені) і до інших несприятливих впливів зовнішнього середовища. Потрібно розрізняти повітря відкритих просторів, яке дещо чисте, і повітря закритих приміщень, яке значно забруднене більше. У повітрі закритих приміщень при поганому провітрюванні накопичується мікрофлора, що виділяється через дихальні шляхи людини. Патогенні мікроорганізми потрапляють в повітря з мокротиння і слини при кашлі, розмові, чханні. Навіть здорова людина при кашлі та чханні виділяє в повітря 10... 20 тис. клітин мікроорганізмів, а хвора людина – у багато разів більше.

Кількість мікроорганізмів в повітрі варіює в великих діапазонах: від одиничних бактерій до десятків тисяч клітин в 1 м³. Так, повітря Арктики містить 2...3 клітини мікроорганізмів в 20 м³, а в містах з промисловими підприємствами в повітрі виявляється величезна кількість бактерій. У лісі, особливо хвойному, мікробів дуже мало, на них згубно діють фітонциди лісу. Спорові бактерії й плісняві гриби були знайдені на висоті 20 км, а мікроорганізми – на висоті 61. ...77 км. Людина в середньому вдихає за добу 12000...14000 л повітря. При цьому в дихальних шляхах затримуються 99,8 % мікроорганізмів, що містяться в повітрі.

Забруднення повітря патогенними мікроорганізмами. При чханні,

кашлі і розмові в повітря викидається безліч крапельок рідини, усередині яких містяться мікроорганізми. Ці крапельки можуть годинами утримуватися в повітрі в зваженому стані, тобто утворюють стійкі аерозолі. За рахунок вологи мікроорганізми у крапельках живуть довше. Таким повітряно-краплинним шляхом відбувається зараження багатьма гострими респіраторними захворюваннями (грип, кір, коклюш, дифтерія, легенева чума і ін.). Подібний шлях розповсюдженню збудників – одна з основних причин розвитку не тільки епідемій, але і великих пандемій грипу, а в минулому і легеневої чуми.

Крім повітряно-крапельного шляху патогенні мікроорганізми можуть поширюватися через повітря "пиловим" шляхом. Пояснюється це тим, що мікроорганізми знаходяться у виділеннях хворих (краплях мокротиння, слизу і т.п.) і оточені білковим субстратом, тому вони більш стійкі до висихання й іншим факторам. Коли такі краплі висихають, вони перетворюються в своєрідну бактеріальний пил, що містить багато патогенних бактерій.

Частинки бактеріальної пилу мають діаметр від 1 до 100 мкм. У часток діаметром більше 100 мкм сила тяжіння перевищує опір повітря, і вони швидко осідають. Швидкість перенесення бактеріального пилу залежить від інтенсивності повітряних переміщень. Бактеріальний пил відіграє особливо важливу роль в епідеміології туберкульозу, дифтерії, туляремії і інших захворювань.

Санітарна оцінка повітря. Для визначення мікрофлори повітря використовують наступні методи: седиментаційний (метод Коха), фільтраційний (повітря пропускають через воду); методи, засновані на принципі ударної дії повітряного струменя з використанням спеціальних приладів. Останні методи надійніші, так як вони дозволяють точно визначити кількісне забруднення повітря мікроорганізмами і вивчити їх видовий склад.

На підприємствах харчової промисловості, у виробничих цехах і в місцях зберігання продуктів необхідно дотримуватися як певної вологості і температури, так і чистоти повітря.

У молочній промисловості санітарний стан повітря виробничих приміщень оцінюють за двома мікробіологічними показниками: загальна кількість бактерій (мікрококи, сарцини, паличкоподібні) і кількість пліснявих грибів і дріжджів, які осідають з повітря на поверхню агаризованого середовища (мясопептонного і сулового агарів) в чашках Петрі за 5 хв.

На підприємствах м'ясної промисловості в холодильних камерах проводять аналіз повітря на присутність пліснявих грибів.

Повітря камер досліджують перед закладанням м'яса (до і після дезінфекції) і періодично – не рідше 1 разу на квартал в процесі зберігання м'яса при температурі -12 °С. Облік ведуть за кількістю колоній пліснявих грибів, що вирости на поверхні агарового середовища на чашках Петрі.

Санітарну оцінку повітря закритих приміщень здійснюють за двома мікробіологічними показниками: загальна кількість мікроорганізмів і кількість санітарно-показових стрептококів в 1 м³ повітря.

За кількістю клітин в 1 м³ повітря судять про ступінь обсіменіння стрептококом носоглоткової мікрофлори людини та тварин і, отже, про можливу наявність у повітрі патогенних мікроорганізмів.

ЛЕКЦІЯ 11

Тема 11. Промислове використання мікроорганізмів

1. Основні принципи мікробіологічних виробництв.
2. Виробництво етилового спирту.
3. Виробництво ацетону та бутилового спирту.
4. Мікробіологічний синтез амінокислот, нуклеотидів та коферментів

1. Основні принципи мікробіологічних виробництв

З давніх часів людство використовувало хімічну активність мікроорганізмів. Однак тільки в дев'ятнадцятому столітті після відкриття Л. Пастера стала зрозумілою мікробіологічна природа процесів, що відбувались при отриманні вина, пива, кисломолочних продуктів, хліба. Люди почали свідомо використовувати мікроорганізми – виникла технічна мікробіологія.

Мікроорганізми синтезують чимало різноманітних біологічно активних речовин, які необхідні для забезпечення їхньої життєдіяльності. В той же час існують такі мікроорганізми, які володіють здатністю до надмірного синтезу окремих біологічно активних речовин. У результаті відбору та вивчення подібних культур – продуцентів біологічних речовин були створені передумови для розробки мікробіологічних методів виробництва амінокислот, ферментів, нуклеотидів, вітамінів, антибіотиків, ліпідів, органічних кислот і т. д.

Природний фонд для подібної селекції утворився в результаті спонтанних мутацій, а також мутацій, які виникли в результаті мутагенного впливу різноманітних природних факторів середовища, в якому проживали мікроорганізми. Пошук продуцентів біологічно активних речовин проводиться серед мікрофлори ґрунту, водоймищ, повітря, рослинних продуктів тощо. Джерелом продуцентів є також колекції мікробних культур, в яких зберігаються ідентифіковані і досліджені культури, серед яких є й еталонні.

З відкриттям штучного індукованого мутагенезу з'явилися нові можливості для селекції високоактивних форм мікроорганізмів-продуцентів біологічно активних речовин. Як мутагени використовують фізичні (ультрафіолетові, рентгенівські, γ-промені, температурний шок тощо) і хімічні (етиленамін, новоембіхін, алкілюючі речовини тощо) чинники. Найбільш цінні результати дає багатоступенева обробка з використанням різних мутагенів.

При розробці методів селекції мікроорганізмів - високоактивних продуцентів біологічно важливих сполук використовуються дані генетики мікроорганізмів, відомості щодо шляхів утворення окремих проміжних і побічних продуктів метаболізму, а також механізмів регуляції їх синтезу з

урахування особливостей культивування мікроорганізмів.

В останні десятиріччя минулого століття технічна мікробіологія збагатилась новими методами, почала використовувати досягнення генної інженерії. Методом зливання мікробних протопластів були отримані гібридні форми продуцентів з підвищеною в порівнянні з природними мікробами здатністю до біосинтезу необхідних речовин. Були розроблені методи включення до ДНК мікробної клітини генів, що відповідають за продукцію необхідних речовин. Зараз працюють спеціальні лабораторії, які виготовляють мікроорганізми-продуценти різноманітних біологічно активних речовин на замовлення виробників цих речовин.

Мікробна культура-продуцент певної біологічно активної речовини є головним компонентом процесу мікробного синтезу. Важливим критерієм якості продуценту є його активність, яка визначається ступенем накопичення цільової речовини. Не менш важливою характеристикою є харчові потреби продуценту – його здатність використовувати різні джерела вуглецю, потреба в додаткових факторах росту, чутливість до супутніх сполук, які вносяться в поживне середовище одночасно з джерелом вуглецю і азоту.

Найбільш вигідними є продуценти з високими швидкостями росту та коротким терміном накопичення цільової речовини. Окремі властивості продуценту можуть також впливати на кінцевий етап виробництва – виділення продукту, особливо, якщо виробляється який-небудь ендегенний продукт біосинтезу. Суттєве значення для виробництва мають стабільність продуценту та його фагостійкість. Продуцент має бути нешкідливим для споживача продукції, виробничого персоналу і навколишнього середовища.

Мікробіологічне виробництво – це багатостадійний процес, який включає підготовку поживного середовища та посівного матеріалу, засів основних апаратів і ферментацію, сепарування клітин продуцента від культуральної рідини, вилучення цільового продукту. За цих умов складно витримувати умови асептичності, тому досі використовуються відкриті ферментатори (наприклад, при виробництві кормових дріжджів). Але розвиток апаратурного оснащення мікробіологічних підприємств відбувається в напрямку переходу до виробництв, що діють виключно в асептичних умовах.

Результативність мікробіологічного виробництва, якість і собівартість продукції залежать не тільки від продуценту, а також від шляхів практичної реалізації технології виробництва, при якій, зокрема, повинні бути враховані штамові особливості продуценту.

2. Виробництво етилового спирту

Спиртове бродіння є одним з найбільш вивчених біохімічних процесів. В Україні більшу частину етилового спирту використовують на технічні потреби - у виробництві синтетичного каучуку, як розчинник при синтезі різних речовин. Для виготовлення напоїв та на медичні потреби використовується менша частина спирту, що виробляється.

Для одержання етилового спирту використовують різні штами дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. Традиційною сировиною для одержання етилового спирту є крохмаловмісні продукти (наприклад, картопля), в даний час розробляються технології отримання спирту з цукровмісної та целюлозовмісної сировини. З целюлозовмісної сировини виробляють технічний етиловий спирт. Харчовий та медичний етиловий спирт отримують з харчової сировини.

При отриманні спирту із крохмаловмісної сировини клейстеризований крохмаль оцукрюють за допомогою зеленого солоду і ферментних препаратів, що містять α -амілазу, β -амілазу, глюкоамілазу. α -амілаза розщеплює амілозу і амілопектин до декстринів, β -амілаза гідролізує декстрини до мальтози, яка під дією глюкоамілаз перетворюється у глюкозу.

Бродіння ведеться при температурі 29 – 30 °С, рН 4,2 – 5,2. Розмноження дріжджів припиняється при досягненні концентрації спирту 5 %. Процес бродіння триває 2-3 доби. Як правило, в спирт зброджують затор, який містить 16 – 18 % розчинних речовин, 13 – 15 % цукрів. Вихід спирту становить 8 – 9 %. Спирт-сирець піддають ректифікації і отримують спирт-ректифікат вищого ступеня очистки з вмістом спирту 96,2 %.

Етиловий спирт отримують також з меляси. Мелясу розводять, додають мінеральні солі і зброджують.

При отриманні спирту із деревини або відходів сільського господарства гідроліз сировини здійснюють 0,5 % розчином H_2SO_4 . Процес здійснюють під тиском 1 – 1,2 МПа впродовж 40 – 50 хв. Вихід цукрів становить 45 – 48 % від сухої маси деревини. Отриманий гідролізат нейтралізують вапняним молоком до рН 5 – 6, очищають і піддають бродінню.

3. Виробництво ацетону та бутилового спирту

Ацетон і бутиловий спирт широко використовують як органічні розчинники, їх отримують бродінням зернового, м'ясно-зернового затору або меляси. При використанні поживного середовища із зерна, готують борошно грубого помелу, змішують його з водою із розрахунку 6 – 8 кг борошна на 100 л води. Затор варять 2 години під тиском 0,2 МПа і стерилізують. Охолоджену до 37 – 42 °С масу зброджують протягом 2 діб при рН 5 – 7. В процесі бродіння з глюкози утворюється суміш, яка містить 6 частин бутилового спирту, 1 частку етилового спирту і 3 частки ацетону.

При ацето-бутиловому бродінні в поживному середовищі також накопичується багато рибофлавіну. Розроблені способи отримання кормового препарату рибофлавіну з ацето-бутилової барди після виділення ацетону і бутилового спирту. Для цього барду випаровують в багатоступеневих вакуум-апаратах і висушують в розпилювальних сушарках. Сухий концентрат містить 60 – 100 мкг/г рибофлавіну.

4. Мікробіологічний синтез амінокислот, нуклеотидів та коферментів

Рівень виробництва амінокислот в світі дорівнює майже 500 тисяч тон на рік, що обумовлено великою потребою в них. Амінокислоти використовуються в медицині, тваринництві, харчовій та легкій промисловостях. Природні амінокислоти є, як правило, оптично активними L-формами, тоді як амінокислоти, що отримують хімічним синтезом, є рацемічними сумішами L- і D-форм, які важко розділити. Ось чому мікробний синтез амінокислот є нині основним і економічно вигідним. Перше місце в цій галузі займає Японія, де лише глютамінової кислоти виготовляється більш 100 тисяч тон на рік.

Мікроорганізми здатні продукувати як замінні, так і незамінні амінокислоти в промислових кількостях, використовуючи як джерела азоту аміак та нітрати, а як джерело вуглецю відповідні інтермедіатори. Специфічні ферменти, які регулюють біосинтез амінокислот, широко розповсюджені у бактерій. Вони з певною глибиною вивчені у *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus subtilis* та ін.

У грибів, у відповідь на амінокислотне лімітування, відмічається некоординоване, паралельне зростання рівня ферментів, які каталізують реакції біосинтезу різних амінокислот. Такий "загальний контроль біосинтезу амінокислот" було також названо "метаболітичним інтерблоком", чи "перехресноколіійною регуляцією". Цей процес виявлений у *Neurospora crassa*, *Saccaromyces cerevisiae*, *Aspergillus nidulans* та інших грибів.

Штами-суперпродуценти амінокислот, що експлуатуються у виробництві, як правило отримані з використанням методів генетики і селекції. Відомі мікроби-суперпродуценти амінокислот (глютамату, L-лізину, L-валіну, L-петидину та ін.) з родів *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Micococcus* та інші.

Технологія мікробного синтезу амінокислот базується на принципах культивування продуцентів і виділення метаболітів. Маточну культуру продуценту спочатку розмножують на агаризованому середовищі в пробірках, далі - на рідинному середовищі в колбах, інокуляторах і посівних апаратах, а після цього – в головних ферментаторах. Потім здійснюють обробку культуральної рідини і виділення амінокислот. Ізольовані чисті кристали цільового продукту висушують і пакують.

Якщо амінокислота використовується в якості кормової добавки, то біотехнологічний процес включає наступні стадії: ферментацію, стабілізацію амінокислоти в культуральній рідині, вакуум-упарювання, стабілізацію за допомогою наповнювача, висушування і пакування готового продукту, в якому повинно бути не менше 10 % основної речовини.

Відомі два способи отримання амінокислот: одноступеневий і двохступеневий. За першим способом штам-продуцент культивують на оптимальному для біосинтезу амінокислоти рідинному середовищі, в якому накопичується і з якого виділяється цільовий продукт.

При двохступеновому способі мікроб-продуцент спочатку культивують

в середовищі, де він синтезує всі необхідні інгредієнти для синтезу цільового продукту. На другому етапі відбувається безпосередньо синтез амінокислоти. Якщо ферменти біосинтезу амінокислоти накопичуються у мікробних клітинах, то після першого ступеня клітини сепарують, дезінтегрують і використовують клітинний сік. В інших випадках для біосинтезу цільових продуктів використовують безпосередньо клітини.

Економічно доцільними є способи отримання амінокислот за допомогою іммобілізованих ферментів і клітин. Наприклад, L-аспарагінову кислоту з фумарової кислоти і аміаку можливо отримувати в одну стадію за допомогою іммобілізованих клітин *Escherichia coli* чи *Pseudomonas aeruginosa*, які мають аспартазну активність.

Мікробіологічний синтез нуклеотидів та коферментів

Великий інтерес до синтезу речовин нуклеотидної природи обумовлений тим, що вони використовуються у складі фармацевтичних препаратів, а також як біохімічні реактиви в промисловості та при наукових дослідженнях. Наприклад, нуклеозид 5-аденозилметіонін, який є переносником метильних груп, в біологічних об'єктах приймає участь в метилюванні мембранних фосфоліпідів, ДНК, РНК і білків; в реакціях трансметилювання значної кількості низькомолекулярних сполук.

Синтез S-аденозилметіоніну базується на здатності дріжджових клітин до накопичення цієї сполуки. Одними з найбільш перспективних визнані винні дріжджі *Saccharomyces sake*. Розроблено спосіб отримання S-аденозилметіоніну при культивуванні цих дріжджів на середовищі, яке має наступний склад (г/л): сахароза - 100; сечовина - 18; L-метіонін - 10; дріжджовий екстракт - 10; KH_2PO_4 4; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - ОД; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - 0,2; і низка мікроелементів. За цим способом концентрація S-аденозилметіоніну в дріжджах складає 250 мг/л.

Розповсюдженість процесів ферментативного каталізу веде до необхідності виробництва різноманітних коферментів. Дуже поширені коферменти нуклеотидної природи – вони входять до складу 85 % відсотків ферментів. Важливішими коферментами, що приймають участь у більшості окислювально-відновних реакцій, є нікотинамідні коферменти.

Синтез нікотинамідаденіндинуклеотиду (НАД) проводять шляхом культивування продуценту *Brevibacterium ammoniagenes* з попередником. Продуцент рекомендується вирощувати на середовищах, які містять глюкозу, сечовину, дріжджовий екстракт, фосфати, солі магнію, кальцію і біотин. Попередниками НАД в середовищі можуть бути нікотинава кислота чи нікотинамід, а також аденін.

Синтез нікотинамідаденіндинуклеотидфосфату (НАДФ) здійснюють шляхом екстракції з дріжджів. Також використовується метод ферментативного фосфорилування, при якому як джерело НАД-кінази використовують клітини мікробів *Brevibacterium ammoniagenes*.

Ферментативну реакцію здійснюють, використовуючи іммобілізовані

мікробні клітини, які отримують методом криогенної радіаційної полімеризації. Технологічний процес може здійснюватися в реакторі періодичної дії з мішалкою чи в реакторі безперервної дії, де іммобілізований фермент вміщують в колонку. Після завершення процесу в реакторі кофермент, що утворився, осаджують етанолом, потім промивають ацетоном і ефіром та висушують.

Крім коферментів нуклеотидної природи є потреба і в інших коферментах.

Синтез коферменту А (КоА) проводять з використанням бактеріальної культури *Brevibacterium ammoniagenes* та при участі пантотенової кислоти, L-цистеїну і АТФ. Синтез КоА завершується при повній витраті АТФ. Поживне середовище вміщує глюкозу, солі фосфору і магнію. Дуже ефективним є спосіб ферментації при додатковому введенні в середовище сполук, які безпосередньо беруть участь в синтезі молекул КоА: L-цистеїну, натрієвої солі аденілової кислоти, фосфопантотенової кислоти. Вихід КоА складає 28 мг/мл. При використанні мутантних штамів *Brevibacterium ammoniagenes* вихід КоА підвищується до 9,3 г/л. Для біосинтезу КоА використовують також культури *Aspergillus niger*, *Rhodotorula minuta*, *R. glutinis* та інші.

ЛЕКЦІЯ 12

Тема 11. Промислове використання мікроорганізмів

1. Мікробіологічний синтез ферментів.
2. Мікробіологічний синтез вітамінів та антибіотиків.
3. Мікробіологічний синтез ліпідів. Виробництво органічних кислот.
4. Виробництво мікробної біомаси, пекарських та медичних дріжджів.

1. Мікробіологічний синтез ферментів Виробництво ферментів - високоактивних, нетоксичних біокаталізаторів білкового походження займає провідне місце в сучасній біотехнології і є однією з галузей мікробіологічної промисловості, об'єм та асортимент продукції якої постійно зростає. Ця галузь має величезний резерв для розвитку, оскільки на сьогодні розроблена невелика кількість методів біосинтезу ферментів, в той час як описано вже більше 3000 природних ферментів.

Використання ферментних препаратів допомагає суттєво інтенсифікувати і вдосконалити багато існуючих технологій, а також створити принципово нові високоефективні процеси в різних галузях промисловості. З застосуванням ферментів розробляються різноманітні специфічні, чутливі і точні аналітичні методи. Використання ферментних препаратів поліпшує показники і виходи в різних біотехнологічних процесах. В сільському господарстві застосування ферментів дозволяє підвищити засвоєність кормів. Включення ферментів до складу миючих засобів значно підвищує їх ефективність. Ферменти широко використовуються у виробництві косметичних та фармацевтичних засобів.

Роль ферментів у виробництві харчових продуктів важко переоцінити, вони використовуються практично у всіх галузях харчової промисловості (табл. 1).

За останні 40 років майже всі нові ферментні препарати отримані за допомогою мікроорганізмів, що пояснюється швидкістю розмноження більшості мікробів, доступністю і відносно не високою вартістю поживних середовищ, а також можливістю змінювати властивості мікроорганізмів у бажаному напрямку за допомогою методів генної інженерії.

Для промислового одержання ферментних препаратів використовують як природні штами мікроорганізмів, які виділяють з природних об'єктів, так і мутантні штами. Продуцентами ферментів можуть бути різні мікроорганізми: бактерії, гриби, дріжджі, актиноміцети. Мікроби можуть синтезувати одночасно цілий комплекс ферментів, але є і такі (особливо серед мутантних штамів), що утворюють в великій кількості тільки один фермент.

В клітинах мікроорганізмів знайдено понад 1500 різних ферментів, причому в кожній клітині, згідно з розрахунками, міститься в середньому 100 тис. молекул ферментів, а на одиничний фермент припадає 0,1-0,5 % від загальної кількості білку.

Технологічний процес виробництва мікробних ферментних препаратів відбувається за наступною схемою: культивування ліофілізованої стандартної культури в колбах на качалках до log-фази → перенесення інокулята в інокулятори → ферментатори малого об'єму (300 – 500 л) та культивування до стаціонарної фази → перенесення інокуляту до проміжного ферментатора - посівного апарату об'ємом 3 - 5 м³ та культивування до стаціонарної фази → перенесення посівного матеріалу до головного ферментатора об'ємом 50 м³.

Таблиця 7.1 Використання ферментів в харчових технологіях

Галузь промисловості	Процеси, в яких використовуються ферменти
Виробництво молочних продуктів	Коагуляція молока, заміна сичужного ферменту в виробництві сиру, модифікація молочного білку, створення сирного аромату, отримання ферментативно модифікованих сирів, отримання молочного цукру
Пивоваріння	Використання несоложеної сировини, розжиження, посилення ферментування, поліпшення фільтрації, контроль за вмістом азоту, отримання низькокалорійного пива
Хлібопечення	Уповільнення черствіння хліба, поліпшення тіста, зменшення витрат борошна, поліпшення кольору кірочки, виробництво охолодженого і замороженого хліба
Виробництво вина, фруктових соків і газованих напоїв	Вилучення крохмалю із соку, здрібнювання, освітлення, виготовлення солодких лікерів, підвищення виходу соків і їх стабілізація

Продовження таблиці 7.1

Виробництво білків	Гідроліз білків, розщеплення полісахаридів, зниження в'язкості, модифікація функціональних властивостей
Виробництво кофе	Сепарування зерен, контроль за якістю екстракту
Переробка крохмалю	Підвищення виходу, модифікація властивостей, розжиження, оцукрення, ізомеризація глюкозних сиропів
Виробництво ароматизаторів	Синтез тонких ароматів, отримання натуральних ароматичних ефірів та ін.
Виробництво спирту	Конверсія сировини, розжиження сировини, оцукрення, поліпшення росту дріжджів
Виробництво олії і жирів	Підвищення виходу, переестерифікація, синтез ефірів, екстракція олій, отримання лецитину

Поживині середовища, які використовуються в інокуляторі, посівному апараті і основному ферментаторі, як правило, однотипні. У виробничих умовах ферменти звичайно отримують при періодичному культивуванні продуцентів. Ферментація в інокуляторах може, в залежності від виду процесу, тривати 10 - 80 год, головна ферментація може продовжуватися від однієї до семи діб в залежності від виду продуцента і ферменту.

Після завершення ферментації культуральну рідину охолоджують до +5 °С, центрифугують і випаровують за температури < 35 °С) у вакуум-випарювальному апараті. Розчин фільтрують, пропускають крізь мембранні фільтри і висушують у вакуум-розпилювальній сушарці. Сухий препарат стандартизують за активністю і направляють на фасування. Для одержання високо очищених ферментних препаратів без сторонніх домішок полідисперсних білків очистку інокулята здійснюють шляхом діалізу і гел'єхроматографії.

Імобілізація ферментів – обмеження свободи пересування білкових молекул у просторі шляхом їх фіксування на носії, є важливим напрямком в реалізації каталітичних функцій цих біокаталізаторів. Імобілізація забезпечує багаторазове використання ферментів, пролонгацію їх стабільності в активній формі, можливість використання в безперервних біотехнологічних процесах, виключення попадання ферменту в цільовий продукт.

Найчастіше закріплення ферментів здійснюється шляхом їхньої взаємодії з іонообмінним носієм (наприклад, ДЕАЕ-целюлоза). При цьому утримання ферментів забезпечується іонною взаємодією. При фіксуванні ферментів на оксиді алюмінію відбувається адсорбційна взаємодія, за рахунок якої можлива імобілізація значної кількості ферменту. Якщо фермент імобілізується на склі, кераміці чи подібних матеріалах, виникає ковалентний зв'язок, проте в цьому випадку можливе зниження активності ферментів.

Найпростішим способом іммобілізації виявилось збереження ферменту всередині клітин продуценту. Так, наприклад, нагрівання до 60 – 80 °С стрептоміцету – продуценту глюкозоізомерази супроводжується відмиранням культури поряд з вибіркоким руйнуванням автолізу. Глюкозоізомераза залишається активною, а стабілізовані таким чином клітини стають проникними для малих молекул.

Внутрішньоклітинні ферменти можуть бути ковалентно зшиті і таким чином фіксовані за рахунок ковалентного зв'язування глутаровим альдегідом. Мікробні клітини – продуценти ферментів і самі ферменти можуть бути замкнуті в різні гелі та волокнисті структури, в мікрокапсули або в ліпосоми.

У виробничих умовах основний технологічний процес за участю іммобілізованих ферментів проводять, як правило, в проточних біореакторах (колонах), в яких біокатализатор може бути у вигляді нерухомого шару чи шару, який переміщується.

В промислових умовах випускаються різні ферментні препарати, ступінь очистки яких залежить від їх призначення. У великій кількості виробляються дешеві технічні, мало очищені ферментні препарати, які містять значну кількість баластних речовин. В менших кількостях випускаються високо очищені і гомогенні ферментні препарати для наукових цілей і медицини. Ферментні препарати, які випускаються промисловістю, як правило, називаються за основним ферментом, що присутній в даному препараті. Такими ферментами є амілази, протеїнази, пектинази, ліпази, целюлази, геміцелюлази, оксидоредуктази, глюкозоізомерази та інші.

2. Мікробіологічний синтез вітамінів.

Мікроорганізми містять багато вітамінів, які частіше за все є коферментами. Склад і кількість вітамінів в біомасі залежить від біологічних властивостей даної культури мікробів і умов культивування. Деякі вітаміни мікроорганізми синтезують самі, інші, навпаки, засвоюють в готовому стані з навколишнього середовища.

Синтез рибофлавіну (вітаміну B₂). Для одержання препарату вітаміну B₂ використовують культуру дріжджів *Pichia guilliermondia*, бактерії *Clostridium acetobutylicum* та ін. Проте найбільшу продуктивність щодо біосинтезу рибофлавіну має дріжджеподібна культура *Eremothecium ashbyi*, яка дає до 6000 мкг рибофлавіну на 1 г сухих речовин поживного середовища.

Рибофлавін накопичується в клітинах мікроорганізмів у вигляді флавінаденінуклеотиду чи у вільному стані. В останньому випадку він представляє собою жовті кристали, які містяться у вакуолях. Максимальну кількість рибофлавіну біомаса культури *Eremothecium ashbyi* продукує на другий день культивування. В цей час спостерігається інтенсивне споруутворення і синтез рибофлавіну. При старінні культури, особливо через 4 – 5 діб культивування, клітини починають автолізуватися і рибофлавін переходить у середовище.

Мікроорганізм *Eremothecium ashbyii* розвивається і синтезує рибофлавін на синтетичних середовищах із зменшеним вмістом вуглеводів (0,25 – 1,5 %) і підвищеною кількістю пептону (1 – 5 %) в присутності вітамінів – тіаміну, біотину та інозиту, а також амінокислот – лейцину, аргініну, метіоніну, гістидину і тирозину.

Біосинтез рибофлавіну стимулюють ацетат амонію і ненасичені жирні кислоти. Цей процес гальмується залізом, тому поживне середовище попередньо обробляють для зменшення вмісту заліза до 5 – 10 мкг на 1 л.

В промислових умовах поживне середовище готують з 1 – 3 % м'яси, гідролу чи глюкози, 3 – 8 % кукурудзяного екстракту чи дріжджового автолізу, з додаванням N, P₂O₅, K, Mg, Zn. Процес ведуть способом глибинної ферментації при інтенсивності аерації 1,5 – 2,0 м³/мл повітря і температурі 29 – 30 °С. Ферментація проводиться до стадії лізису міцелія і утворення спор.

Для отримання кормового препарату рибофлавіну культуральну рідину випарюють у вакуумі до 30 – 40 % сухих речовин і висушують в розпилювальній чи вакуумній сушарці. Для отримання кристалічного препарату рибофлавіну культуральну рідину нагрівають до 95 – 100 °С, бо в цих умовах весь рибофлавін виходить з клітин. З розчину рибофлавін осаджують за допомогою гідросульфїту. Після декантації осадок промивають, центрифугують і сушать. Отриманий технічний препарат можливо використовувати в тваринництві.

Синтез ціанкобаламіну (вітаміну В₁₂). Ціанкобаламін має найбільш складну порівняно з іншими відомими вітамінами структуру молекули. Це єдиний вітамін, який містить метал – кобальт. Ціанкобаламін представляє інтерес не тільки як вітамін, який попереджує виникнення анемії, але й як біологічно активна речовина, що впливає на метаболізм організму, стимулює ріст тварин. Встановлена висока біологічна ефективність як кристалічного препарату вітаміну В₁₂, так і його кормових концентратів.

В природі вітамін В₁₂ синтезують тільки мікроорганізми, наприклад, *Propionobacterium shermanii*, метаноутворюючі бактерії, *V. megaterium* та ін. В клітинах мікробів зустрічаються біля 30 аналогів вітаміну В₁₂, однак біологічну активність проявляють тільки два з них. Для одержання медичного препарату вітаміну В₁₂ широко використовують *Propionobacterium shermanii*, які вирощують способом глибинної ферментації, на середовищі, яке містить 1% гідролізату казеїну, 1% пептону, 1,25% лактату натрію, 0,3% дріжджового екстракту, солі кобальту і 5,6диметилбензімідазолу. В анаеробних умовах ферментація культури *Propionobacterium* продовжується 12 годин за температури 28 – 30 °С.

В аеробних умовах біосинтез вітаміну В₁₂ здійснюють актиноміцети, наприклад *Actinomycetes olivaceus*. Для отримання кристалів вітаміну В₁₂ культуральну рідину центрифугують і виділяють клітинну масу, яка містить вітамін. Після очищення і кристалізації отримують вітамін В₁₂ з виходом 67 - 70 %.

Для потреб тваринництва цей вітамін отримують шляхом метанового

бродиння відходів харчової промисловості. За цим методом, зі спиртової барди, що довго зберігалась, виділяють змішану культуру, яка інтенсивно утилізує сухі речовини барди і виділяє метан. Культуру поступово розмножують в інокуляторі за термофільних умов за температури 55 – 57 °C і рН 8 на спиртовій барді до 20 – 30 м³ об'єму.

В поживному середовищі створюють анаеробні умови, для чого крізь нього продувають вуглекислий газ. Процес іде за безперервною схемою. Для інтенсифікації синтезу вітаміну В₁₂ до середовища додають СоСl₂. Після вакуум-випарювання і сушки отримують концентрат вітаміну В₁₂, який містить 80 – 120 мкг/г вітаміну В₁₂, рибофлавін та інші вітаміни групи В, а також бетаїн і амінокислоти.

Збудники метанового бродиння – *Methanobacterium omelanski*, *M. barkari*, *Methanosarcina methanica*, *Methanococcus mazei* та інші, виділяють з субстратів, що містять вуглевод та метан. Для їх культивування використовують синтетичні середовища, які містять метиловий спирт, кобальт та інші солі. На таких середовищах можливо отримувати більш чистий ціанкобаламін, який в кристалічному вигляді можна використовувати в медицині.

Синтез ергокальциферолу (вітаміну D₂). Синтез вітаміну D₂ та його попередників здійснюють, головним чином, мікроміцети. Клітини хлібопекарських дріжджів містять 0,2-0,3 % ергостерину, який є попередником (провітаміном) вітаміну D₂. В спеціальних умовах культивування при посиленій аерації і підвищеній кількості посівного матеріалу вміст ергостерину можливо підвищити до 2,3 – 5,0 % в перерахунку на суху речовину.

Багато ергостерину міститься в міцелії плісневих грибів *Aspergillus* і *Penicillium*. Сумарна кількість стеринів в міцелії складає 1,2 – 1,4 % на суху речовину, ергостерин складає 80 % всієї кількості стеринів.

З дріжджів чи міцелію плісневих грибів отримують вітамін D₂ в кристалічному вигляді чи у вигляді олійного концентрату. Для кормових цілей використовують також сухі опромінені дріжджі, які виготовляються на заводах кормових дріжджів.

Одержання препарату вітаміну D₂ організують таким чином, щоб можливо було використовувати і інші вітаміни дріжджів. В клітинах дріжджів ергостерин і вітаміни групи В включені у високомолекулярні комплекси. Щоб їх виділити, необхідно гідролізувати дріжджі при нагріванні з кислотою чи ферментативно (шляхом автолізу).

Для одержання кристалічного ергокальциферолу з дріжджів чи міцелію грибів, біомасу гідролізують в автоклаві з кислотою при 110 °C впродовж 20 – 30 хв. Далі гідролізовану масу впродовж 40 – 50 хв обробляють спиртом за температури 75 – 85 °C. Після охолодження маси до 10 – 15 °C її фільтрують. Фільтрат концентрують у вакуум-випарному апараті. Отримують концентрат вітамінів групи В, який містить 50% сухих речовин. Після обробки спиртом отримують ліпідний концентрат, який омилюють 45% розчином NaOH. Розчин

ергостерину кристалізують при 0°C.

Синтез каротиноїдів. Каротиноїдами називають жовто-оранжеві пігменти, які зустрічаються в клітинах рослин. Частина з них є біологічно активними.

Каротиноїди містять клітини багатьох бактерій (мікробактерії, мікрококи), дріжджів (*Rhodotorula*, *Sporobolomyces*), плісневих грибів (*Blakeslea trispora*). Особливо багата (β -каротином) біомаса *Blakeslea trispora*, яка містить до 10 – 50 мг β -каротину на 1 г біомаси.

Для вирощування продуцентів каротиноїдів використовують як поверхневе, так і глибинне культивування. При використанні глибинного культивування середовище готують на доступних джерелах вуглецю, які містять вуглеводи та кислоти. Для цього часто використовують мелясні чи зернові затори, концентрація яких складає в середньому 7 – 8 %. Як джерело азоту можливо використовувати мінеральні солі чи органічні речовини. Крім того, до середовища додають 4 – 5 % рослинної олії, багатої олеїною і ліноленою кислотами, а також біля 0,1% β -іонуна.

Культивування посівного матеріалу продовжується 48 год, головна ферментація триває 5 - 6 діб за температури 28 °C, pH 6,2 – 6,7. Під час ферментації середовище активно аерують. Інтенсивний синтез каротиноїдів починається після використання азоту поживного середовища.

Під час ферментації *Blakeslea trispora* накопичує 1,0 – 1,7 кг β -каротину на кожний кубічний метр культурального середовища. Після ферментації міцелій фільтрують і висушують у вакуумі за температури 50 – 55 °C. Каротин вилучають з сухого міцелію екстрагуванням ефіром чи рослинними оліями.

Очевидність ефективності мікробного синтезу каротиноїдів стає ясною, якщо прийняти до уваги, що таку кількість β -каротину, яка за таким способом накопичується в 1 м³ поживного середовища, можна отримати з моркви, що була вирощена на 1 га протягом року.

Мікробіологічний синтез антибіотиків. Антибіотики - органічні сполуки, які синтезуються живою клітиною і здатні в невеликих концентраціях гальмувати розвиток чи повністю знешкоджувати чутливі до них види мікроорганізмів. Антибіотики продукують не тільки клітини мікроорганізмів і рослин, але й клітини тварин. Антибіотики рослинного походження називаються фітонцидами. Так з цибулі виділено фітонцид алін, з часника – савитін, з томатів – томатин.

За біологічною дією антибіотики поділяються на антибактеріальні, антифунгіцидні (протигрибкові) і протиракові. До антибактеріальних антибіотиків відносяться пеніцилін, еритроміцин, олеандоміцин, карбоміцин, тетрациклін, неоміцин, стрептоміцин, коліміксин та інші. Стрептоміцин, біоміцин та інші антибіотики мають протитуберкульозну дію. До групи протигрибкових антибіотиків входять ністатин, леворин та інші. Протираковими антибіотиками є актиноміцин і мітоміцин С, а також інші.

Найважливішими продуцентами антибіотиків є актиноміцети та

плісеневі гриби. Наприклад, *Streptomyces fungicidius* та *S. nausei* продукують ністатин, фугацидін та ін.; *S. rimosus* - тетрацикліни; *Streptomyces griseus*, *Actinomyces streptomycini* стрептоміцини і їм подібні антибіотики; *Aspergillus* - фумігатин; *penicillium notatum*, *Penicillium chrysogenum* - пеніцилін і його похідні. Здатні до синтезу антибіотиків і деякі бактерії, наприклад, *Vibrio cholerae* синтезує хінони; *Bacillus polymyxa*, *B. aerosporus* - граміцидін, поліміксин та інші.

Першим антибіотиком мікробного походження, який почали виробляти промисловим шляхом, був пеніцилін. Спочатку його одержували методом поверхневого культивування. Зараз в усьому світі пеніциліни, як і інші антибіотики, отримують методом глибинного культивування.

Для одержання пеніциліну використовують спори грибів. У промисловості спори частіше одержують, вирощуючи міцелій в скляних флаконах на просіяному середовищі. Висушений споровий матеріал можливо зберігати при кімнатній температурі. Отриманий споровий матеріал використовують для засіву інокуляторів. У посівних ферментаторах міцелій вирощують 12 – 18 год.

Поживне середовище для вирощування міцелію і біосинтезу пеніциліну готують з кукурудзяного екстракту, лактози, глюкози, мінеральних речовин і деяких препаратів фенілоцтової кислоти - попередників антибіотика. Після відділення міцелію у фільтраті міститься 3 – 6 % сухих речовин, з яких 1,5 – 3,0 % складає пеніцилін. Після екстрагування і очищення вихід пеніциліну складає 85 % від його кількості в культуральному середовищі.

В теперішній час налагоджено виробництво багатьох антибіотиків, які широко використовуються. В сільському господарстві антибіотики застосовують для боротьби із збудниками захворювань рослин, в якості стимуляторів росту рослин і тварин.

Додання невеликої кількості антибіотика, наприклад, біоміцину, в харчовий раціон молодяку птиці і домашньої худоби сприяє прискоренню їх росту і зниженню захворюваності. Доказана ефективність використання антибіотиків для затримки мікробного псування харчових продуктів, особливо сумісно з дією холоду. Встановлено, що терміни зберігання свіжої риби, яку перед укладанням в лід короткочасно занурювали в розчин біоміцину (25мг/л) збільшується приблизно на 5 – 10 днів.

Широке практичне використання антибіотиків для консервування харчових продуктів зустрічає, однак, заперечення. Це пояснюється тим, що багаторазове надходження з їжею до організму людини навіть незначної кількості антибіотика може привести до появи стійких до дії антибіотиків форм хвороботворних мікроорганізмів. Крім того, антибіотики можуть негативно впливати на корисні бактерії з нормальної мікрофлори шлунково-кишкового тракту людини. Можуть виникати також алергічні реакції організму на антибіотики.

Для консервування харчових продуктів доцільно мати спеціальні

антибіотики, які не використовуються в медицині. Таким антибіотиком є нізін, який виробляється деякими кисломолочними стрептококами. Нізін інгібує ріст багатьох стафілококів і стрептококів, затримує проростання спор анаеробних термостійких бактерій. Нізін використовують в консервній промисловості для зниження термостійкості бактеріальних спор, що дозволяє дещо зменшити температуру і тривалість стерилізації продуктів. Використовують нізін також при одержанні загущеного молока, ікри, плавлених сирів.

Для обробки плодів і овочів, закладених на тривале зберігання, використовують трихотецин. Це антибіотик немедичного призначення, який продукується грибом *Trichothecium roseum*. Він має високу протигрибкову дію і використовується для боротьби з хворобами овочевих і плодових культур. В результаті обробки моркви 0,1% суспензією трихотецину втрати маси коренеплодів при зберіганні в промислових умовах на протязі 7 місяців були скорочені на 15 – 17 %.

3. Мікробіологічний синтез ліпідів.

Під ліпідами в даному випадку розуміють розчинні в неполярних розчинниках клітинні компоненти мікроорганізмів, їх концентрація складає до 75 % сухої біомаси. За добу у біомасі дріжджів *Rhodotorula gracilis* може утворитися 50 – 60 % ліпідів. Мікроорганізми синтезують різноманітні ліпіди. В якості прикладу можливо навести склад ліпідів, що накопичуються в біомасі сухих речовин при культивуванні дріжджів *Lipomyces lipoterus* на гідролізаті торфу: 5,0 – 6,0 % з них складають фосфоліпіди; 4,8 – 6,5 % - стерини, 2,1 – 10,7 % - моно-і дигліцериди, 1,7 – 2,1 % - ефіри стеринів і воску.

До складу ліпідів мікроорганізмів входить порівняно багато ненасичених жирних кислот. Так, у ліпідах *Penicillium sorii* з жирних кислот містяться пальмітинова – 22 %, стеаринова - 7,6 %, олеїнова - 45,2 % і лінолева – 20 % від загальної їх кількості.

Співвідношення насичених і ненасичених кислот залежить не тільки від властивостей продуценту, але й від умов культивування. Наприклад, низька температура стимулює синтез ненасичених жирних кислот у грибів. Загальна кількість і співвідношення жирних кислот залежать також від присутності К, Mg, Na і їх співвідношення у середовищі. Синтез ліпідів стимулюють інгібітори вуглеводного обміну, наприклад, арсеніт натрію. Щоб в клітинах мікробів накопичилась максимальна кількість ліпідів, в період ферментації треба лімітувати кількість азоту і вести її в аеробних умовах.

Ліпіди мікробного походження в перспективі можуть замінити жири і олію рослинного і тваринного походження, які використовують для технічних потреб, оскільки для їх одержання може бути використана дешева сировина. Такою дешевою сировиною є гідролізати деревини і торфу, а також продукти переробки нафти.

Ліпіди виділяють з біомаси екстракцією ефіром. З 1 тони сухого торфу

можливо отримати 40 – 50 кг ліпідів. Їх фізико-хімічні властивості близькі до рослинних олій, які використовують в багатьох галузях промисловості для технічних потреб.

Останнім часом доказано, що мікроорганізми можуть виділяти ліпіди з клітин в культуральну рідину. Культура дріжджів *Rhodotorula glutinis* виділяє з клітин оцтову (40 %), міристинову (1 %), пальмітинову (14 %), стеаринову (1,5 %), олеїнову (29 %), лінолеву (3 %), ліноленову (0,5 %) і 3-дигідроксигенксадеканову (85 %) кислоти.

При культивуванні *Candida bogoriensis* в середовищі утворюються голчасті кристали ліпідів з температурою плавлення 74 – 76 °С. Ці кристали складаються з вуглеводу сахарози і гідроксигокзанової кислоти, які з'єднуються глікозидним зв'язком.

Виробництво органічних кислот. Мікробіологічним шляхом з вуглеводів, спиртів чи навіть вуглеводнів можливо отримувати різні органічні кислоти - оцтову, молочну, лимонну, янтарну, ітаконову, фумарову, глюконову, 2-кетоглутарову та інші. Продуцентами цих кислот можуть бути бактерії, плісеневі гриби чи дріжджі.

Мікроби, які продукують молочну кислоту, а також викликають спиртове бродіння, під час еволюції пристосувались до анаеробного способу життя. Оцтова і лимонна кислоти утворюються в аеробних умовах.

Виробництво оцтової кислоти і оцту. Оцтом називають 5 – 9 % водний розчин оцтової кислоти (CH_3COOH). Він був виявлений у кислому вині раніше, ніж оцтова кислота. Пізніше оцет почали одержувати, зброджуючи спиртовий розчин за допомогою звичайних оцтовокислих бактерій – *Bacterium schutzenbachii*, *Bact.curvum*. В результаті перегонки розчину, що збродив, отримують 70 – 80 % розчин оцтової кислоти - оцтову есенцію. Оцет, що був отриманий мікробіологічним шляхом має приємний аромат і смак за рахунок утворення в процесі бродіння невеликої кількості ефірів, наприклад, еталацетату, а також спиртів і кислот.

Оцтова кислота використовується як в харчовій промисловості, так і для розчинення органічних барвників, отримання медикаментів, пластмас, синтетичних волокон, в мікробіологічному синтезі як джерело вуглецю і т інш.

Оцтовокислі бактерії належать до роду *Acetobacter*. Реакцію утворення оцтової кислоти зі спирту каталізує фермент алкогольоксидаза. Для цього процесу оптимальними є рН 3,0 і температура 28 °С, якщо використовується культура *Bact.schutzenbachii*, для культури *Bact.curvum* оптимальною є температура 35 – 37 °С. Концентрація спирту в середовищі дорівнює 7 – 15 %, кінцева концентрація кислоти становить 8 – 14 % (в середньому 10 %). Під час бродіння треба підтримувати хорошу аерацію – теоретично на 46 частин по масі спирту необхідно 32 частини кисню.

В промисловості оцтовокисле бродіння ведуть у вертикальних генераторах безперервним методом. Розчин спирту подається в генератор зверху, повітря продувають знизу. Теоретично з 100 л спирту можливо

отримати 103 кг оцтової кислоти, на практиці отримують 75 – 93 кг оцтової кислоти внаслідок втрат при розрідженні, неповного окислення спирту, а також випаровування.

Виробництво молочної кислоти. Молочну кислоту широко використовують в хімічній, фармацевтичній і харчовій промисловостях. На різноманітних субстратах, які містять вуглеводи, молочнокислі бактерії продукують молочну кислоту ($\text{CH}_3\text{CHONCOOH}$). Ферментні системи молочнокислих бактерій перетворюють глюкозу в молочну кислоту через етапи гліколізу і окислення пірвіноградної кислоти лактатдегідрогеназою.

У промисловості молочну кислоту отримують, використовуючи як продуцент *Lactobacillus delbrueckii*, які є термофільними бактеріями з оптимумом температури 45 – 50 °C.

Молочну кислоту у промислових умовах одержують методом анаеробної глибинної ферментації. В якості основної сировини використовують мелясу, сахарозу, гідролізати крохмалю. На процес молочнокислого бродіння позитивно впливають біологічно активні речовини витяжки солодових ростків. Концентрація цукру в середовищі дорівнює 5-20%, температура 48-50°C, pH 6,3-6,5. Під час ферментації pH середовища підтримується за допомогою крейди, яка додається 3-4 рази на добу. Тривалість ферментації складає 7-11 діб. Після ферментації в середовищі залишається 0,5-1,0% цукру і 11-14% лактату кальцію. Молочну кислоту з лактату отримують за допомогою сірчаної кислоти, очищують активованим вугіллям та іншими реагентами.

Виробництво пропіонової кислоти. Пропіонову кислоту ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$) продукують пропіоновокислі бактерії. У виробництві сиру вони сприяють утворенню специфічного смаку. Пропіонову кислоту як розчинник використовують у виробництві запашних речовин. У хіміко-фармацевтичній промисловості вона використовується в якості сировини.

Для промислового отримання пропіонової кислоти використовують різні культури бактерій, наприклад, *Propionibacterium shermanii*, *P. rubrum* та ін.

Пропіонову кислоту отримують в анаеробних умовах методом глибинного культивування. Використовують середовище, яке містить 2 % глюкози і джерело органічного азоту (дріжджовий екстракт, солі молочної кислоти). Процес іде в нейтральному середовищі (pH 6,8-7,2) за температури 30 °C і триває 7-12 діб. В процесі бродіння накопичуються пропіонова та оцтова кислоти (5:1) і виділяється вуглекислий газ. Біля 75 % цукру споживається на утворення кислот, а 20 % - на утворення CO_2 .

Виробництво лимонної кислоти. Лимонна кислота широко розповсюджена у фруктах. В деяких країнах дотепер її отримують з лимонів. Лимонну кислоту широко використовують в медицині, в харчовій промисловості – для виробництва напоїв і кондитерських виробів, в хімічній промисловості – для виготовлення фотоемульсій, для фарбування волокон і т. ін. Раніше для отримання лимонної кислоти головною похідною речовиною

була сахароза. Тепер використовують мелясу та інші джерела вуглеводів.

Технологія виробництва лимонної кислоти з меляси методом поверхневого культивування складається з трьох стадій: спочатку продуцент *Aspergillus niger* розмножують у пробірках, далі – в колбах, потім – в алюмінієвих кюветах. Тривалість кожної стадії складає 2 – 4 доби, вирощування іде при 32 °С. Теоретично зі споживаного цукру мають отримувати 98 % лимонної кислоти, але на практиці вихід продукту менший, бо як завжди мають місце різні побічні процеси.

Хімізм процесу утворення лимонної кислоти пов'язаний з реакціями циклу Кребса. В культуральній рідині можливо виявити не тільки кислоти циклу Кребса аконітову, янтарну, фумарову і яблучну, але іноді до 0,5 % глюконової, щавлевої і малонової кислоти.

В 1 л культуральної рідини міститься 40 – 50 г лимонної кислоти, 3 г глюконової кислоти, 1 г щавлевої кислоти і 7 г незброджених цукрів. Таким чином, з загальної кількості кислот лимонна складає 90 %. Лимонну кислоту з розчину виділяють хімічним шляхом.

В останні роки у виробництві лимонної кислоти спосіб поверхневого культивування починає замінюватися глибинним культивуванням.

Виробництво глюконової кислоти. Глюконова кислота використовується для отримання медикаментів. Кальцієва сіль глюконової кислоти легко засвоюється в організмі і служить джерелом кальцію. Глюконову кислоту отримують, використовуючи гриби родів *Penicillium* і *Aspergillus*. Продуценти глюконової кислоти містять активний фермент – глюкозооксидазу, який каталізує окислення альдегідної групи в молекулі глюкози.

Процес ферментації можливо вести як шляхом поверхневого, так і глибинного культивування, використовуючи концентровані розчини (до 35%) глюкози. При отриманні глюконової кислоти джерелом вуглецю може бути мальтоза або маноза. Сахароза і лактоза для цих цілей не годяться. В аеробних умовах вихід глюконової кислоти від кількості глюкози складає 90 %.

4. Виробництво мікробної біомаси.

Для накопичення мікробної біомаси з метою отримання білкових кормових концентратів використовують дріжджі родів *Candida*, *Trichosporon* та інші, мікроміцети та метаноокислюючі бактерії родів *Mycobacterium*, *Pseudobacterium*, *Actinomyces*, *Chromobacterium*, *Brevibacterium* та інші. Виробництво дріжджів здійснюють також для потреб харчових виробництв та медицини.

Поживними середовищами для їх розвитку можуть бути: вуглеводневі субстрати (нафта, парафіни, природний газ); природні та синтетичні субстрати, що містять органічні кислоти, спирти та інше; вуглеводнімісні субстрати – гідролізати деревини і відходів сільського господарства, меляса, сульфітний луг целюлозної промисловості.

Вирощування культури кормових дріжджів починається в лабораторії підприємства, де їх культивують в 50 – 100 мл колбах на середовищі, що містить 8 – 10 % солоду, впродовж 24 год при pH 4,5 – 5,5 і температурі 30 °С. Далі культуру розмножують в інокуляторах до одержання посівного матеріалу в кількості 10 % від кількості цукру, що міститься в робочому об'ємі виробничого апарату. Культивування на цих етапах здійснюється в стерильних умовах при інтенсивній аерації (30 – 50 м³ повітря в годину на 1 м³ середовища).

Основна ферментація ведеться протягом 3 - 5 год безперервним методом в апаратах Лефрансуа, де поживне середовище підтримується у стані піни. Концентрація редуруючих речовин в середовищі становить 2,5 %. Отримана дріжджова маса концентрується у флотаційних чанах, сепарується, промивається, піддається термолізу, вакуумному випарюванню та сушінню. З апарату об'ємом 320 м³ за добу отримують 1 – 5 т сухих дріжджів з вологістю 5 – 8 %.

Розроблені технології отримання мікробної біомаси шляхом одночасного культивування бактерій та грибів, які володіють целюлазною активністю на середовищах, що містять целюлозу (тирса, солома, картопляні вичавки, буряковий жом, торф та інші). В цих технологіях замість кислотного гідролізу целюлози використовується ферментативний гідроліз, а процес оцукрення відбувається одночасно з вирощуванням продуценту білка.

Найперспективнішими продуцентами білка на целюлозних субстратах є гриби. Вихід біомаси грибів роду *Penicillium* складає не менше 60 % від маси джерела вуглецю, який використовується. Кормова біомаса, отримана на картопляному соці з використанням *Penicillium digitatum* містить 59 % білку.

Використання природного газу, що містить метан, може здійснюватись двома шляхами: автотрофним – з утворенням вуглекислого газу, та гетеротрофним при окисленні метану через спирт і альдолазу. Прикладом типової технології одержання мікробної біомаси з використанням метану може бути культивування бактерій роду *Metanomonas*.

Вирощування мікробної культури здійснюється за періодичною схемою у ферментаторі з замкненою системою циркуляції газової суміші. Використовується газова суміш наступного складу: 8 – 11 % кисню, 10 – 15 % метану, не більше 5 % вуглекислого газу, решта - азот. Газова суміш безперервно пропускається через культуральну рідину – розчин солей, в якій суспендована культура бактерій. Культивування здійснюється при 30 °С, тиск на початку ферментації дорівнює 4 Мпа, в кінці - 0,1 Мпа. За дві доби така технологія дозволяє отримати концентрацію біомаси біля 1 г на 1 л культуральної рідини.

Можливе й безперервне проточне культивування мікроорганізмів. В цьому випадку досягається концентрація біомаси не менше 12-15 г на 1л культуральної рідини. При використанні даних технологій вміст білку в біомасі досягає 73 %, що перевищує цей показник для дріжджів. Отриманий

білок збагачений сірковмісними амінокислотами.

Виробництво пекарських та медичних дріжджів Пекарські дріжджі додають до борошна в концентрації 1 – 2 %, розвиваючись в тісті вони утворюють вуглекислий газ. У виробництві пекарських дріжджів використовують спеціально підібрані штами дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. Культури дріжджів для хлібопечення повинні мати високу підйомну силу і ферментативну активність, добре рости на мелясному середовищі і давати високий вихід біомаси.

Пекарські дріжджі мають і бродильну активність, але щоб досягнути використання цукрів тільки для утворення біомаси, спиртове бродіння необхідно обмежити. Це досягається інтенсивною аерацією середовища, а також підтриманням низької концентрації цукрів в ньому (0,5 – 1,5 %). Цукор подають в середовище безперервно з постійною швидкістю або з прискоренням. Ферментацію здійснюють за періодичною схемою впродовж 10 – 20 год. Це дозволяє уникнути розвитку побічної мікрофлори, особливо так званих "диких дріжджів", які розмножуються швидше за пекарські. Найчастіше поживним середовищем є меляса. Мелясу розводять водою у співвідношенні 1:1-1:4, підкислюють сірчаною кислотою до pH 5,0 та освітлюють центрифугуванням.

Товарні дріжджі отримують в три етапи: отримання першого посівного матеріалу, отримання другого посівного матеріалу, отримання товарних дріжджів. Останній етап, що триває 12 год, здійснюють таким чином. У ферментатор додають теплу воду у кількості 70 – 80 % від необхідної для кінцевого розведення меляси кількості, 10% меляси і розчин солей. Встановлюють оптимальні pH, температуру і починають помірну аерацію (1:1 за об'ємом). Додають посівний матеріал в кількості 8 – 15 % за сухою масою від кількості цукру.

Протягом першої години поживне середовище не додають, в наступні 10 год його вводять безперервно в кількості 5; 6; 7,2; 8,2; 9,2; 10,2; 11,4; 12,8; 11; 9 % за годину від загальної кількості середовища. Аерація за цей час також змінюється від 1:1 до 1,5:2,9 об'ємів повітря на 1 одиницю об'єму середовища у хвилину.

Біомасу дріжджів відділяють від культуральної рідини і отримують концентрат дріжджів, який містить 80 – 120 г/л сухої біомаси. Концентрат охолоджують до 8 – 10 °C, фільтрують на вакуум-фільтрах чи фільтр-пресах і отримують дріжджову пасту з 70 – 75 % вологості, яку формують в бруски масою 50, 100, 500 і 1000 г.

Вихід пресованих дріжджів становить 150 % сухої біомаси – 37 % від кількості використаного цукру. Пресовані дріжджі зберігаються при 0 – 4 °C до 10 діб. Якщо дріжджі висушити при 30 – 40 °C до вологості 8%, вони будуть зберігатись до 6 місяців.

Медичні дріжджі отримують з побічного продукту пивоваріння – рідких пивних дріжджів. При виробництві пива на кожний декалітр його

утворюються 0,05 – 0,1 кг дріжджів, які містять 10 – 12 % сухих речовин. Для позбавлення пивних дріжджів притаманного для них гірконого присмаку їх обробляють 1 % розчином кухонної солі, потім багаторазово промивають водою, сепарують і сушать за температури не вище 110 °С. Вміст вологи в медичних дріжджах становить 7 – 8 %. Вони застосовуються як джерело вітамінів, в першу чергу групи В, при гіпо- та авітамінозах.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Капрельянц Л. В., Пилипенко Л. М., Єгорова А. В. та ін. Технічна мікробіологія: підручник / Л. В. Капрельянц, Л. М. Пилипенко, А. В. Єгорова, Я. Б. Пауліна, О. М. Кананихіна, Т. О. Величко, Л. В. Труфкаті, О. О. Килименчук, Т. В. Шпирко; [Під ред. Л. В. Капрельянца]. – Херсон: ОЛДІ-ПЛЮС: 2020. – 432 с.
2. Технічна мікробіологія: навч.-метод. посібник. / Укл.: Васіна Л.М., Чебан Л.М.– Чернівці: Чернівецький національний університет, 2020. – 124 с
3. Соломон А.М., Казмірук Н.М., Тузова С.Д. Мікробіологія харчових виробництв: навчальний посібник для студентів напряму підготовки «Харчові технології». – Вінниця: РВВ ВНАУ, 2020. – 312 с.
4. Єгорова А.В. Мікробіологія галузі. Мікробіологія бродильних виробництв: навч. Посібник/ А.В. Єгорова, Л.В. Капрельянц, Л.В. Труфкаті. - Херсон: ОЛДІ-ПЛЮС, Стереотип. 2021. – 136 с.
5. Капрельянц Л. В., Пилипенко Л. М., Єгорова А. В. та ін. Мікробіологія харчових виробництв: навчальний посібник / Л. В. Капрельянц, Л. М. Пилипенко, А. В. Єгорова, Я. Б. Пауліна, Л. В. Труфкаті, О. М. Кананихіна, Т. О. Величко, О. О. Килименчук, О.А. Кручек, Т. В. Шпирко, М.І. Охотська. – Херсон: ОЛДІ-ПЛЮС: 2024. – 478 с.
6. Технічна мікробіологія: практикум для здобувачів вищої освіти / В.В. Євлаш, Л.В. Газзаві-Рогозіна, А.С. Бикова, О.В. Циганков – Х. : НТУ «ХПІ», ХДУХТ, 2020. – 180 с..
7. Priss, O., Zhukova, V., Holiachuk, S., & Karman, T. (2021). Effect of heat treatment with biopreparation on the quality of tomato fruit during storage. *Technology Audit and Production Reserves*, 3(3(59), 40–45. <https://doi.org/10.15587/2706-5448.2021.235533>
8. Голячук С.С., Гунько Ю.Л., Федорусь Ю.В. Особливості змін окремих фізико-хімічних показників крафтових розсільних м'яких сирів з пробіотиками при їх виробництві. Товарознавчий вісник: збірник наукових праць. – Випуск 16 / Редкол.: ред. Пахолюк О.В., відп. секретар Передрій О.І. Луцьк, 2023. С. 19-27. <https://doi.org/10.36910/6775-2310-5283-2023-17>

ДЛЯ ЗАМІТОК

ДЛЯ ЗАМІТОК

Технічна мікробіологія [Текст]: конспект лекцій для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти освітньо-професійної програми «Харчові технології» галузі знань 6 Інженерія, виробництво та будівництво 613 Харчові технології денної та заочної форм навчання / уклад. С. Є. Голячук. – Луцьк: ЛНТУ, 2025. – 124 с.

Комп'ютерний набір

С.Є. Голячук

Підп. до друку «__»_____2025 р. Формат 60х84/16. Папір офс.
Гарн. Таймс. Ум. друк. арк. 7,5.

Відділ іміджу та промоцій ЛНТУ
43018, м. Луцьк, вул. Львівська, 75

