

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ВСП «БЕРДЯНСЬКИЙ КОЛЕДЖ ТАВРІЙСЬКОГО ДЕРЖАВНОГО
АГРОТЕХНОЛОГІЧНОГО УНІВЕРСИТЕТУ»

КОНСПЕКТ ЛЕКЦІЙ

з дисципліни «Технічна мікробіологія»

для студентів

спеціальності 5.05170108

«Зберігання, консервування та переробка плодів і овочів»

спеціальності 5.05170106

«Бродильне виробництво і виноробство»

Викладач: _____ Ю.В. Нестерова

2018

Тема 1. Вступ

Навчальний посібник "Технічна мікробіологія" складений у відповідності з діючою програмою з дисципліни. Передбачає вивчення теоретичних основ загальної мікробіології, отримання знань та практичних навичок мікробіологічного контролю технологічних процесів, що гарантує підвищення якості продуктів харчування.

У виданні розглянуто основні питання:

- морфологія та фізіологія мікроорганізмів;
- основи сучасної класифікації;
- метаболізм мікроорганізмів;
- екологія мікроорганізмів;
- основні біохімічні процеси, які викликані мікроорганізмами;
- загальну характеристику основних мікробіологічних показників якості харчових продуктів і методи їх визначення.

Особливу увагу приділено основам санітарної мікробіології для визначення якості товарів народного споживання і санітарного стану навколишнього середовища з метою профілактики харчових захворювань мікробної природи.

Студенти під час лабораторних занять повинні оволодіти основними мікробіологічними методами досліджень, ознайомитися з фізіологічними групами бактерій, навчитися виявляти санітарно-показові організми у воді, освоїти ряд методів для дослідження аеробних та анаеробних процесів.

Одержані під час проходження курсу навички дають змогу студентам добре орієнтуватися в процесах біологічного очищення стічних вод, мікробної деструкції та трансформації забруднюючих довкілля речовин.

Тема 2. Морфологія і класифікація мікроорганізмів

План

1. Класифікація мікроорганізмів
2. Морфологія мікроорганізмів

1. Класифікація мікроорганізмів

Одна з перших спроб наукової класифікації бактерій належить датському зоологу О. Мюллеру, який ще у XVIII ст. виділив два роди - *Monas* і *Vibrio*. Пізніше німецький біолог Е. Геккель запропонував виділити мікроби в окреме царство *Protista* (*protos* - найпростіший). Воно охоплювало переважно одноклітинні мікроорганізми. Подальші дослідження привели до поділу цього царства на вищі (водорості, гриби, найпростіші) і нижчі (бактерії, ціанобактерії) протисти. Такий підхід сприяв чіткому поділу живого світу на прокаріотичні та еукаріотичні живі системи.

Сучасна систематика (таксономія) бактерій - наука про їх розподіл за певними групами (таксонами). Для їх характеристики враховують різноманітні властивості: морфологічні ознаки, здатність споживати атмосферний кисень, шляхи одержання енергії, оптимальна температура росту, рН середовища, здатність засвоювати певні речовини, наявність включень, склад клітинної стінки, вміст основ ДНК, екологічна ніша тощо.

У мікробіології, як і в біології, для визначення видів бактерій прийнято подвійну (бінарну) номенклатуру, яка характеризується тим, що кожен вид має родову і видову назви. Отже, перше слово вказує на рід і пишеться з великої літери. Воно походить від прізвища вченого, який відкрив і вивчав даний мікроорганізм, або характеризує якусь морфологічну ознаку. Друге слово означає вид, пишеться з малої літери і пов'язане з назвою хвороби, прізвищем автора та ін. Так, стафілокок золотистий має назву *Staphylococcus aureus*, збудник туберкульозу - *Mycobacterium tuberculosis*.

Відповідно до нового кодексу номенклатури бактерій, що діє з 1 січня 1980 р., запроваджено такі міжнародні класифікаційні категорії царства Procaryotae: Розділ — Клас — Порядок — Родина — Рід — Вид.

Основною номенклатурною одиницею є вид.

За сучасними даними, вид бактерій розглядають як сукупність популяцій, що мають такі властивості:

- 1) спільне походження;
- 2) пристосованість до певного середовища життя;
- 3) подібність обміну речовин та характеру міжвидових відношень;
- 4) наявність подібного генетичного апарату, морфологічних та фізіологічних ознак.

Для визначення виду мікроорганізму спочатку систематизують основні його ознаки (морфологія, рухливість, спороутворення, біохімічні та інші властивості), а потім за ними ототожнюють (ідентифікують) мікроорганізм і знаходять за визначником його місце в класифікації бактерій.

З розвитком генетики і селекції мікроорганізмів запроваджено поняття популяції – елементарної еволюційної одиниці (структури) групи особин певного виду. Клон– це сукупність особин, що походять від однієї клітини.

Під терміном «штам» розуміють культуру бактерій, виділену з організму людини або тварини із зовнішнього середовища.

Мішаними культурами називають суміш неоднорідних мікроорганізмів, виділених із природних субстратів (нестерильних порожнин, тканин організму, харчових продуктів, води, повітря, ґрунту, змивів із предметів). Чисті культури– це мікроорганізми одного виду або підвиду.

2. Морфологія мікроорганізмів.

Мікроби – це одноклітинні безхлорофільні організми прокаріотичного типу. Морфологічними властивостями бактерій є: величина, форма, характер розміщення в препараті, наявність диференційованих структурних елементів – спор, капсул, включень, джгутиків.

Форма бактерій та їх розміри мають велике таксономічне значення і є важливими критеріями при їх ідентифікації. Мікроскопія патологічного матеріалу та вивчення морфологічних особливостей мікроорганізмів дозволяють встановити діагноз гонореї, сифілісу, поворотного тифу, туберкульозу, а також поставити орієнтовний діагноз правця, газової анаеробної інфекції, дифтерії.

Розміри бактерій вимірюються у мікрометрах ($1\text{ мкм}=10^{-6}\text{ м}$), розміри внутрішніх структур бактеріальних клітин – у нанометрах ($1\text{ нм}=10^{-9}\text{ м}$). Розміри бактерій, які спричиняють патологію людини, звичайно перебувають у межах $0,1\text{--}10\text{ мкм}$. Типові коки мають близько 1 мкм у діаметрі, мікоплазми — $0,1\text{--}0,3\text{ мкм}$, більшість паличок $2\text{--}5\text{ мкм}$ завдовжки і $0,5\text{--}1,0\text{ мкм}$ завтовшки, спірохети відповідно $3\text{--}20\text{ мкм}$ і $0,1\text{--}0,5\text{ мкм}$.

Форма бактерій може бути різноманітною. Бактерії за формою поділяють на:

- 1) кулясті,
- 2) паличкоподібні,
- 3) спіралеподібні,
- 4) ниткоподібні

Кулясті (сферичні) бактерії, або коки (грец. *kokkos* - зерно, кісточка) мають округлу форму.

1. За характером поділу та розміщення розрізняють такі коки:

Кулясті бактерії або коки (лат. *soccus* – ягода, зерно) – мікроби кулястої (шароподібної), бобоподібної та ланцетоподібної форми розміром біля 1 мкм . В залежності від розміщення клітин після розмноження коки поділяються на:

- **мікрококи** (лат. *micros* - дрібний) – поодинокі розміщені кулясті клітини. Як правило, це сапрофітні мікроорганізми і за звичайних умов не викликають захворювань у людини і тварини.
- **диплококи** (лат. *diplo* – подвійний) – група коків, які після поділу не розходяться, а існують парами. Типовими представниками диплококів є

збудники епідемічного цереброспинального менінгіту та гонореї. Ці мікроорганізми мають характерну бобоподібну форму в мазках, увігнутими сторонами повернуті один до одного.

- **стрептококи** (лат. streptos – ланцюг, намисто) – мікроби, які після поділу в одній площині не розходяться, а формують ланцюжки, що складаються з 3-4, а деколи з десятків клітин круглої або еліпсоподібної форми. Частина їх є сапрофітами, представниками нормальної мікрофлори людини і тварин, інші викликають тяжкі гнійно-септичні процеси (пневмонію, менінгіт, мастит тощо). Представники: *S. faecalis*, *S. lactis*.
- **тетракоки** (гр. tetra - чотири) – клітини, розміщені по чотири, як внаслідок поділу материнської клітини в двох взаємно перпендикулярних площинах. Як правило, ці мікроорганізми непатогенні для людини та тварин. Представники: *Stomatococcus mucilaginosus*, *Pediococcus damnosus*
- **сарцини** (лат. sarcio – зв'язую) - коки розташовані у взаємно перпендикулярних площинах у вигляді пакетів з 8, 16, 32, 64 клітин. Патогенних представників серед них не виявлено. Представник: *Sarcina ventriculi*.
- **стафілококи** (лат. staphylos – гроно винограду) – коки, які діляться в кількох різних площинах. Клітини розташовуються хаотично, у вигляді скупчень. В мазках із культури нагадують виноградне гроно. Зустрічаються в повітрі, ґрунті, організмі людини і тварин. Чисельні їх представники спричиняють різноманітні гнійно-септичні захворювання: фурункульоз, карбункульоз, нефрит, холецистит, менінгіт, пневмонію, мастит тощо. Представники: *S. epidermidis*, *S. Saprophyticus*, *Staphylococcus aureus*

2. Паличкоподібні бактерії.

Розмір паличкоподібних бактерій коливається в межах 0,8 -11 мкм. Діаметр їх не перевищує 0,5 – 1,2 мкм. Паличкоподібні форми прийнято

розрізняти на такі, що не утворюють спор – бактерії та палички, що здатні утворювати спори – бацили. Коли спори перевищують діаметр самої палички їх називають кlostридіями (Clostrum – ракетка). Паличкоподібні форми бактерій (мал. 8) в мазках можуть бути розташовані поодинокі, у вигляді ланцюжків чи мати унікальне розташування – подібне до букв X, V.

Паличкоподібні бактерії можуть мати різноманітну форму : пряма коротка чи, навпаки, товста паличка, злегка зігнута паличка, еліпсоподібна, веретеноподібна, у вигляді барабанної палички або тенісної ракетки та ін.

Кінці їх можуть бути нібито обрублені (збудник сибірки), або рівні, заокруглені (кишкова паличка, сальмонели та ін.).

Зустрічаються паличкоподібні форми із загостреними кінцями (фузобактерії), булаво-подібними потовщеннями на них. Інколи трапляються мікроби, що мають розгалуження.

Спороутворювальні бактерії є більш пристосованими до існування в несприятливих умовах, аспорогенні бактерії більш розповсюджені (Escherichia coli., Proteus vulgaris, Serratia marcescens та ін.)

Серед спороутворюючих паличок – бацил та кlostридій також є чимало видів, які викликають тяжкі захворювання у людини і тварин.

3.3. Звивисті форми бактерій

Мають унікальну зігнуту, хвилясту чи штопороподібну форму. У залежності від кількості витків, товщини та довжини клітини звивисті форми бактерій поділяють на вібріони, спірили та спірохети .

- вібріони (лат. vibrare – коливатись, тремтіти) – зігнуті палички, які нагадують кому. Ці бактерії широко розповсюджені в морях та витоках річок, на поверхні морських тварин та у вмістимому кишківника. Деякі види виявлені також у прісній воді. Біля 10 видів є патогенними для людини, декілька видів викликають захворювання морських хребетних та безхребетних. Найбільш відомими збудниками захворювань людини є *Vibrio cholerae* – збудник холери, *V. parahaemolyticus* – збудник харчових отруєнь.

- спірили (лат. *spira* – завиток, спіраль) – на відміну від вібріонів, їх клітини товщі, довші та більш звивисті. Спірили–бактерії, які мають декілька вигинів, що надає їм форму англійської букви S.

Спірили можуть мати від 1 до 8-10 витків. Переважно цесапрофіти, які мешкають у стоячих, забруднених водоймах, а також гниючих рештках рослинного та тваринного походження, зокрема: *S. volutans*, *S. minus* *S. volutans* – зустрічаються у стоячих прісних водоймах.

Мають понад 8 -10 і більше витків. Довжина їх клітини може сягати 500 мкм, проте діаметр збудників не перевищує - 0,3-1,5 мкм.

Treponemapallidum - грам-негативна бактерія типу спірохет (*Spirochaetes*), що є збудником кількох захворювань людини, зокрема сифілісу. Це облигатний внутріклітинний паразит, що, як вважається, має метаболічні дефекти, які роблять бактерію непридатною до вільного життя.

Лептоспіроз – гостра інфекційна хвороба, що викликається збудником з роду лептоспір. Характеризується ураженням капілярів, часто ураження печінки, нирок, м'язів, інтоксикація, супроводжується хвильоподібною лихоманкою. Трепоними викликають у людини сифіліс, лептоспіри - лептоспіроз, борелії - поворотний тиф.

Лаймська хвороба (кліщовий бореліоз) — інфекційне трансмісивне природноосередкове захворювання. Спричинюється спірохетами, які переносяться іксодовими кліщами, і характеризується схильністю до затяжного і хронічного перебігу з переважним ураженням шкіри, нервової системи, опорно- рухового апарату і серцево-судинної системи.

Існує велика група непатогених спірохет (власне спірохети, сапроспіри, кристиспіри).

Інші форми бактерій.

4. Ниткоподібні мікроорганізми

Актиноміцети (лат. *actis* - промінь, *myses* - гриб) -одноклітинні бактерії, які раніше вважали грибами через здатність клітин галузитись.

Вони належать до родини Actinomycetaceae, яка налічує понад 400 різноманітних видів. Актиноміцети (мал.9), як правило, сапрофіти, вільно живуть у ґрунті, забезпечуючи його плодючість та обумовлюючи характерний запах, а також і в інших об'єктах зовнішнього середовища.

Багато з них є продуцентами антибіотиків (стрептоміцин, тетрацикліни).

Актиноміцети – переважно тоненькі прямі чи злегка зігнуті палички розміром 0,2-1,0 x 2-5 мкм. Кінці паличок нерідко булавоподібно потовщені. Типовою для актиноміцетів є і ниткоподібна форма довжиною 10-50 нм.

Тема 3. Обмін речовин у мікроорганізмів

План

1. Загальна характеристика обміну речовин
2. Типи живлення мікроорганізмів
3. Дихання бактерій

1. Загальна характеристика обміну речовин

Обмін речовин або метаболізм — сукупність хімічних реакцій, що відбуваються в живих організмах. Метаболізм (схема 1) поділяється на дві гілки:

1. Катаболізм (конструктивний, дисиміляція або енергетичний обмін), що включає реакції розщеплення складних органічних речовин до простіших, яке супроводжується їх окисненням і виділенням енергії.

2. Анаболізм (асиміляція або пластичний обмін) — реакції синтезу складних клітинних речовин, з поглинанням енергії, яка отримана у катаболічних реакціях.

Конструктивний та енергетичний метаболізм — тісно пов'язаний між собою. Часто їхні шляхи співпадають і одні і ті ж речовини використовуються для різних потреб. У цьому випадку такі субстрати називаються **амфіболітами**, а шляхи — **амфіболічними**.

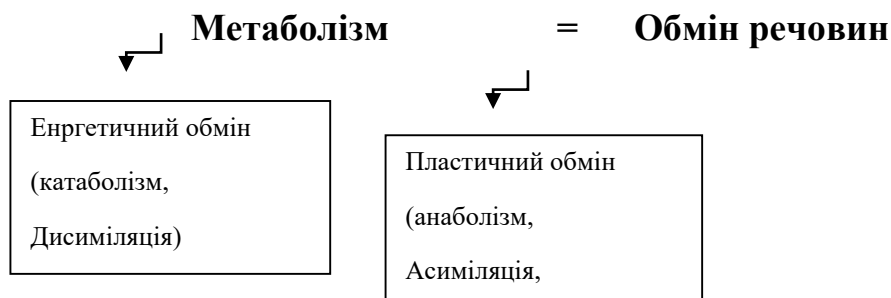


Схема 1. Обмін речовин.

Метаболічні цикли мікробів надзвичайно різноманітні. Вони здатні використовувати різні види енергії й численні вихідні субстрати для побудови власних структур.

Надходження речовин в клітину та виділення продуктів обміну в навколишнє середовище проходять у мікроорганізмів через всю поверхню тіла. Завдяки величезній поверхні клітини порівняно з її об'ємом мікроорганізму обумовлюється дуже активний обмін речовин.

Майже всі метаболічні реакції пришвидшуються ферментами — каталізаторами білкової природи. Ферменти не тільки роблять можливим швидке протікання у клітині великої кількості реакцій, що за інших умов потребували би дуже високих температур або тиску, а й дозволяють регулювати їх за потреби. Реакції каталізовані ферментами часто об'єднуються у послідовності, де продукт однієї стає субстратом для наступної, такі серії реакцій називаються метаболічними шляхами. Метаболічні шляхи в свою чергу поєднуються між собою, утворюючи складні розгалужені сітки.

Важливою характеристикою основних метаболічних шляхів та їх компонентів є те, що вони є спільними для більшості живих організмів, що свідчить про єдність походження живої природи. Проте певні особливості метаболізму має не тільки кожен вид, а й окремі особини в межах виду. Харчові речовини, які надходять у клітину, використовуються для побудови складових структур (конструктивний обмін) та забезпечення клітини енергією (енергетичний обмін).

Конструктивний обмін забезпечується живленням — процесом надходження поживи із навколишнього середовища і засвоєнням її клітиною. Конструктивний обмін відбувається із поглинанням вільної енергії.

Для того, щоб клітина могла існувати, повинен відбуватись постійний обмін речовин із навколишнім середовищем. У клітину ззовні мусить надходити пластичний матеріал, з якого вона синтезує всі необхідні їй молекули.

У конструктивному метаболізмі провідна роль належить сполукам вуглецю, з якого побудовано всі живі організми. Залежно від того, який вуглець засвоюють бактерії, вони поділяються на дві групи: автотрофи і гетеротрофи.

Автотрофи – здатні синтезувати всі необхідні їм органічні речовини з CO_2 як єдиного джерела вуглецю.

Гетеротрофи – мікроорганізми, джерелом вуглецю для яких є органічні сполуки. Вони здатні споживати будь-які прості й складні вуглецеві сполуки – цукри, амінокислоти, багатоатомні спирти, парафіни.

Енергетичний обмін - це потік біохімічних реакцій, в результаті яких із речовин, що надійшли в клітину ззовні, виділяється енергія й запасається у клітині в спеціальних з'єднаннях, що витрачаються клітиною у процесах біосинтезу. Енергетичний обмін забезпечується за рахунок так званого дихання.

За своїм об'ємом реакції, що забезпечують клітину внутрішньою енергією, значно перевищують біосинтетичні процеси.

Мікроорганізми можуть використовувати не всі форми енергії, що існують у природі. Вони здатні користуватись **тільки енергією сонячного світла** (фотосинтезуючі бактерії) та **хімічною** (хемотропні мікроби). Недоступні для них ядерна, механічна та теплова енергії.

Явище нагромадження енергії розглядається як перенос іонів водню шляхом окремого транспорту протонів та електронів: протони при цьому виділяються в навколишнє середовище, а електрони передаються на відповідні молекули- акцептори.

Протягом своєї еволюції бактерії виробили три способи одержання енергії: **бродиння, дихання і фотосинтез.**

При бродінні в анаеробних умовах у певних окислювально-відновних реакціях утворюються нестабільні молекули, фосфатна група яких містить багато вільної енергії. Вона переноситься на молекулу аденозиндифосфорної кислоти (АДФ), яка перетворюється в АТФ. Реакції, в яких енергія запасається

на АТФ, одержали назву субстратного фосфорилування. Відновлювач, який при цьому утворюється, (відновлений фередоксин), переносить електрони на ендогенний акцептор (ацетальдегід) або звільняється у вигляді водню.

Окислення відбувається внаслідок переносу електронів через спеціальний електронотransпортний ланцюг, локалізований на мембрані. Він складається з набору переносників і в більшості випадків спричиняє відновлення молекулярного кисню до H_2O .

Основою фотосинтетичних процесів у представників мікробного світу є поглинання сонячної енергії різними пігментами: флавопротеїнами, хінонами, цитохромами і білками, що містять залізо. Вони й забезпечують перенос електронів і, відповідно, вивільнення енергії.

Енергія, яку генерує клітина, запасується у формі електрохімічного трансмембранного градієнта іонів водню або в молекулах АТФ.

Прокаріоти містять декілька сполук із високоенергетичними фосфатними зв'язками – ацилфосфати, фосфоенолпіруват, аденозинфосфосульфат, а також сполуки з тіоефірним зв'язком - ацилтіоефіри. У цих речовинах одна з груп має великий енергетичний потенціал. Перенос її веде до розриву зв'язку, з'єднуючого з молекулою, отже, до різкого зменшення вільної енергії, накопиченої в клітині. Приєднання такої групи до молекули акцептора підвищує рівень його вільної енергії, переводячи молекулу в активовану форму, що здатна брати участь у біосинтетичних реакціях.

Найголовніше місце в переносі хімічної енергії належить системі АТФ. Вона утворюється при субстратному та мембранозалежному фосфорилуванні. При цьому від субстрату відщеплюється фосфатна група і переноситься на молекулу АДФ. Вона містить два макроергічних зв'язки, які при гідролізі звільняють 31,8 кДж/моль енергії. Молекули АТФ вважають енергетичною валютою клітини, а малі розміри дозволяють їм легко дифундувати в ті ділянки клітини, де необхідна енергія. Підраховано, що для подвоєння клітинної маси молекула АТФ повинна біля 10000 разів брати участь у процесах гідролізу й синтезу.

3. Типи живлення мікроорганізмів

У класифікації типів живлення (див. табл.3) використовується сучасна термінологія, запропонована у 1946 році на мікробіологічному симпозіумі. На базі трьох критеріїв розглядається кілька типів живлення:

- щодо джерела вуглецю (автотрофія, гетеротрофія);
- щодо донора електронів (органотрофія, гетеротрофія);
- щодо джерела енергії (хемотрофія, фототрофія).

За відношенням до джерела вуглецю мікроорганізми поділяються на **автотрофи та гетеротрофи**.

Автотрофи (autos - сам, trophe - живлення) здатні синтезувати всі необхідні їм органічні сполуки з CO_2 як єдиного джерела вуглецю.

Гетеротрофи (heteros - інший) - мікроорганізми, джерелом вуглецю для яких є органічні сполуки. Вони здатні споживати будь-які прості й складні вуглецеві сполуки – цукри, амінокислоти, багатоатомні спирти, парафіни.

В свою чергу, гетеротрофи поділяють на **метатрофи** (сапрофіти), які потребують відносно простих органічних сполук й використовують мертвий поживний матеріал, і **паратрофи** (паразити), які потребують складних сполук, що здебільшого містяться тільки в живих істотах.

Патогенні мікроорганізми є метатрофами і паратрофами.

Згідно з типом живлення всі бактерії поділяють, залежно від вимог до **живильних середовищ**, на **невибагливі** (розмножуються на загальних, універсальних, простих живильних середовищах) і **вибагливі** (потребують особливих живильних середовищ). Звичайно, для росту й розмноження бактерій недостатньо тільки поживних речовин у сприйнятливому вигляді, потрібні також вітаміни й речовини росту, різні для різних видів.

Ступінь вираження гетеротрофії у бактерій може бути найрізноманітніша. Найвищу гетеротрофність мають прокаріотичні організми, які здатні жити тільки всередині живих клітин (рикетсії, хламідії), їх метаболічні шляхи повністю залежать від організму хазяїна. Такі мікроорганізми називають **облігатними** (суворими) паразитами. Однак багато

мікробів можна вирощувати на штучних живильних середовищах, до складу яких входять білки, пептиди, вітаміни, фрагменти нуклеїнових кислот. Такі форми бактерій, здатних рости поза клітинами людини або тварин при створенні необхідних умов, називають факультативними паразитами.

Більшість бактерій, що населяють земну кулю (понад 99 %), належать до **сапрофітів**. Вони безпосередньо від живих організмів не залежать і живляться за рахунок мертвих органічних залишків. **Мікроорганізмам необхідний азот для синтезу азотовмісних сполук.** Джерела його можуть бути різноманітними. Одні бактерії здатні засвоювати молекулярний азот повітря (бульбочкові мікроби), інші використовують різноманітні субстрати. Бактерії, як правило, засвоюють азот у відновленій формі – це солі амонію, сечовини, органічні сполуки (амінокислоти, пептиди). Однак окислені форми азотистих сполук (нітрати) також можуть бути засвоєні мікробами. У клітині вони відновлюються до аміаку за допомогою ферментів нітратредуктази й нітритредуктази. Дикі штами бактерій здатні синтезувати всі необхідні їм речовини з обмеженого числа органічних сполук, наприклад, глюкози та солей амонію. Вони називаються **прототрофами**.

Окремі мікроорганізми (варіанти прототрофів) втратили здатність до синтезу деяких необхідних їм ростових факторів, отже, не можуть рости на мінімальних живильних середовищах, їх називають **ауксотрофними** організмами. Процес живлення потребує використання енергії. Залежно від джерела енергії, що засвоюють мікробні клітини, їх поділяють на фототрофи і хемотрофи.

Фототрофні бактерії (фотосинтезуючі бактерії) здатні використовувати як джерело енергії електромагнітні промені (світло). Патогенних для людини і тварин серед них не виявлено. Інші прокаріоти, які одержують енергію за рахунок окисно-відновних реакцій в субстратах, називаються **хемотрофами**.

Для здійснення різноманітних реакцій клітині необхідні електрони. Речовини, які в процесах біохімічних перетворень віддають електрони,

називаються **донорами**. Молекули, які одержують електрони, називаються **акцепторами**.

Мікроорганізми, для яких джерелом електронів є неорганічні сполуки типу H_2 , H_2S , NH_3 , CO та ін., називаються **літотрофами** (гр. *litos* - камінь). Інші бактерії, для яких донором електронів виступають органічні речовини, називаються **органотрофами**.

Залежно від способу одержання енергії та донора електронів мікроорганізми поділяють на чотири групи: фотолітотрофи, фотоорганотрофи, хемолітотрофи та хемоорганотрофи.

В залежності від донора бактерії мають назву: **водневі, нітрифікуючи, сіркобактерії, залізобактерії**. Їх назва – літоавтотрофи. Більшість з них виконує важливі функції в кругообігу речовин в природі. **С.М. Виноградський** відкрив новий тип живлення – **хемосинтез**, коли окислення молекулярного водню, NH_3 , H_2S і заліза є джерелом енергії аеробних бактерій. Серед автотрофів відомі ціанові, пурпурові, зелені бактерії, які використовують сонячну енергію і проводять фотосинтез.

4. Дихання бактерій

Для процесів життєдіяльності бактерій необхідна енергія, яку вони отримують у результаті дихання. Сутність енергетичного метаболізму полягає в отриманні енергії, що утворюється в процесі біологічного окислення в аеробних і анаеробних умовах.

Тому точніше назвати цей процес **не диханням, а біологічним окисленням**.

Дихання, або біологічне окислення- це окисно-відновний процес, що полягає в накопиченні енергії з утворенням молекул АТФ, цього універсального джерела енергії у живих організмів, яке називають також енергетичною валютою клітини.

Типи дихання: аеробне та анаеробне. Між аеробами і анаеробами немає різкої межі. Існують проміжні форми, які можуть існувати як при

наявності молекулярного кисню, так і при його відсутності. Такі мікроби **називають факультативними аеробами або факультативними анаеробами.** До **факультативних анаеробів** належать **дріжджі і молочнокислі бактерії.**

При **аеробному диханні** *поживні речовини окислюються киснем повітря до кінцевих продуктів розпаду, тобто до вуглекислого газу і води.* Енергія, що утворюється при цьому, використовується мікроорганізмами при засвоєнні поживних речовин для руху і розмноження.

До **аеробних мікроорганізмів**, тобто до мікроорганізмів, у яких дихання проходить аеробним шляхом, належать всі **плісневі гриби, а також багато бактерій.**

В більшості випадків **для дихання використовуються** вуглеводи, але можуть використовуватись інші органічні сполуки - білки, жири, спирти та ін. **При анаеробному диханні мікроорганізми отримують енергію не шляхом окиснення, а шляхом розпаду складних органічних речовин до більш простих.** Анаеробне дихання прийнято називати **бродинням.** Мікроорганізми, у яких має місце анаеробне дихання, називають **анаеробами.** До них належать дріжджі та багато бактерій.

Анаеробні мікроорганізми поділяють на:

- **строгі** (облігатні, безумовні) - які ростуть при відсутності вільного молекулярного кисню за рахунок процесів **бродиння.** Вони одержують кисень з органічних сполук у процесі їх метаболізму. Деякі з них не виносять навіть незначної кількості вільного кисню. Такими бактеріями є **збудники правця, ботулізму, газової анаеробної інфекції, бактерії, фузобактерії** та ін. Окремі клостридії можуть бути аеротолерантними. Для культивування їх використовують спеціальні живильні середовища й апарати (анаеростати), в яких створюються анаеробні умови за рахунок поглинання кисню або заміни його індиферентними газами (азотом, воднем).

- **факультативні** (умовні), що можуть жити як без кисню, так і в його присутності.

На ці процеси використовується близько 1/4 частини вивільненої енергії. Більша частина енергії витрачається в навколишнє середовище. Це спричиняє **нагрівання продуктів**, в яких розвиваються мікроорганізми. Саме так нагрівається вино, в якому проходить спиртове бродіння. В результаті бурхливого розвитку мікроорганізмів нагрівається вологе зерно, бавовна, торф, сіно, гній. Тепло, що виділяється при самонагріванні гною, використовують для утеплення теплиць. Деякі мікроорганізми виділяють невикористану ними енергію у вигляді світла. Це можна довести на прикладі світіння гнилого дерева.

Питання для самоконтролю

1. Охарактеризуйте хімічний склад бактерій?
2. Що таке ліпопротеїди, глікопротеїди?
3. Як відбувається обмін речовин у бактеріях?
4. Назвіть типи живлення бактерій ви знаєте? Розкажіть про конструктивний та енергетичний метаболізми бактерій?
5. Як називається наука, що вивчає ферменти? Від чого залежить активність ферментів? Як ви думаєте, при якій температурі припиняється швидкість ферментів?
6. За умовами існування клітини ферменти поділяють на?
7. Ферменти мікроорганізмів та їх практичне значення?

Тема 5. Культивуація та ріст мікроорганізмів

План

1. Чисті культури мікроорганізмів
2. Основні типи поживних середовищ
3. Фази росту і розмноження мікроорганізмів
4. Методи культивування мікроорганізмів

1. Чисті культури мікроорганізмів

Чисті культури мікроорганізмів широко використовують під час приготування різноманітних товарів. Так, наприклад, для приготування закваски при виробництві простокваші використовують чисту культуру молочних стрептококів (*Str. lactis*), для приготування закваски для виробництва ацидофільного молока використовують чисту культуру ацидофільної палички (*Bact. acidoph*), для виробництва вина, спирту, пива використовують чисті культури відповідних рас дріжджів, для виробництва лимонної кислоти використовують чисту культуру гриба *Asperg. niger*.

Під чистою культурою мають на увазі накопичення клітин одного і того ж виду мікроорганізмів, що утворюються з однієї клітини в результаті її розмноження. Для того, щоб одержати чисту культуру, необхідно, по-перше, ізолювати окрему мікробну клітину і тільки потім, створивши сприятливі умови для її розмноження, отримати з неї чисту культуру даного виду мікробів. Виведення чистих культур методом висіву на тверді поживні середовища - цей метод зводиться до наступного: при розмішуванні розведеного висівного матеріалу в розплавленому твердому середовищі мікробні клітини розподіляються більш-менш далеко одна від одної. Далі, при застиганні поживного середовища, окремі клітини закріплюються у ньому у визначеному місці. Кожна ізолювана таким чином клітина розмножується на тому місці, куди потрапила, утворюючи накопичення клітин одного виду. Таке скупчення клітин називається колонією. Колонії видно неозброєним оком.

Кожна колонія, яка утворилася з однієї клітини, є чистою культурою, яку необхідно ізолювати в окрему пробірку з поживним середовищем.

У природному середовищі і в організмі хазяїна сапрофіти й паразити самотійно знаходять собі необхідні умови для життєдіяльності. Проте інколи доводиться отримувати популяції мікроорганізмів у штучних умовах. Такі популяції називають культурами.

Культура мікроорганізмів—це мікроорганізми, розмножені на живильному середовищі в лабораторних умовах.

Культури мікроорганізмів мають **штучний, лабораторний** характер.

Популяція мікроорганізмів — це сукупність живих мікроорганізмів, незалежно від того, отримана вона в лабораторії чи розвилася в природних умовах в організмі хазяїна чи поза організмом.

Отже, чиста культура — культура одного виду мікроорганізмів. Якщо культура складається з кількох видів мікроорганізмів, вона є змішаною.

Проросла культура—це чиста культура, забруднена іншим видом мікроорганізмів.

Клон -мікробна популяція, отримана шляхом вегетативного розмноження однієї клітини. За визначенням, **клонова культура** складається з бактерій, ідентичних за генотипом і фенотиповими ознаками.

Штам - культура мікроорганізмів, виділена з певного джерела.

Штами бактерій, отримані з різних джерел, практично можуть не відрізнятися, але деякі штами можуть мати суттєві відмінності. Цих відмінностей недостатньо, щоб вважати штами належними до різних видів чи варіантів. Але деякі штами, які мають корисні властивості, є об'єктами патентування.

2. Основні типи поживних середовищ

Для нормального росту і розвитку мікроорганізмів, як і будь-яким живим істотам, потрібні органічні і неорганічні субстрати, які надають їм енергію та матеріал для біосинтезу. У природних умовах всі необхідні

елементи для харчування мікроорганізми отримують з навколишнього середовища. При культивуванні в лабораторних умовах використовують

поживні середовища (**додаток 9**), в яких харчові потреби мікроорганізмів забезпечуються штучно. Клітини потребують для свого розвитку макроелементи (вуглець, азот, водень, кисень, фосфор та ін.) та мікроелементи (цинк, марганець, йод, мідь тощо). Для деяких мікроорганізмів додатково необхідні фактори росту (амінокислоти, нуклеотиди, жирні кислоти) і вітаміни. Отже, поживні середовища містять збалансований набір органічних та неорганічних речовин і є придатними для росту і розвитку мікроорганізмів.

Поживні середовища мають відповідати таким вимогам:

- 1) містити всі необхідні джерела макро- та мікроелементів, а за необхідності – вітаміни і фактори росту;
- 2) усі сполуки, які входять до їх складу, мають бути у певному збалансованому співвідношенні;
- 3) містити у своєму складі необхідну кількість води;
- 4) мати оптимальні для мікроорганізмів значення рН та Eh;
- 5) бути ізотонічними, тобто мати такий самий осмотичний тиск, як і внутрішнє середовище мікробної клітини;
- 6) бути стерильними.

Середовища, які використовуються в мікробіології, поділяють на групи за такими критеріями: походження, консистенція, призначення (Табл. 9).

Рідкі середовища використовують для накопичення біомаси або метаболітів мікроорганізмів, для визначення їх фізіолого-біохімічних особливостей тощо.

Напіврідкі середовища містять 0,75–1% агар-агару (полісахариду, який отримують з бурих водоростей, температура плавлення біля 1000С) або 5–7,5% желатини (речовини білкової природи, яку отримують із сполучної тканини тварин, температура плавлення 25⁰С) і використовуються для визначення газоутворення та характеру росту мікроорганізмів.

Щільні середовища містять 1,5–2% агар-агару або 10–15% желатини. Вони використовуються для виділення чистих культур мікроорганізмів, вивчення їх культуральних особливостей та антагоністичних властивостей.

Сипучі середовища (розварене зерно, а також сипучі субстрати, просочені поживними речовинами) використовуються, як правило, в промисловості.

Натуральні середовища мають рослинне або тваринне походження та невизначений склад. Це відвари злаків, фруктів та овочів; молоко, кров, сироватка, сеча, тваринні тканини, яйця птахів та їх зародки; дріжджовий автолізат; відвари м'яса; витяжки гною і ґрунту; вода озер і морів. До них належить м'ясо-пептонний бульон (МПБ), м'ясо-пептонний агар (МПА), м'ясо-пептонна желатина (МПЖ) та ін.

Синтетичні середовища готуються з певних хімічно чистих речовин у точно вказаних концентраціях. Вони мають визначений склад і легко відтворюються. Наприклад, середовище Чапека для цвілевих грибів, середовище Ешбі для азотфіксуючих бактерій та ін.

Напівсинтетичні середовища мають частково невизначений склад. Вони містять як хімічно чисті сполуки (вуглеводи, фосфати, нітрати), так і компоненти з не встановленим чітким складом (дріжджовий екстракт, пивне сусло, пептон).

Середовища загально призначення використовують для культивування більшості відомих мікроорганізмів. Наприклад, МПБ, МПА, МПЖ.

Середовища спеціального призначення готують з певною метою для конкретних потреб. Серед них розрізняють елективні (або селективні) середовища, які забезпечують оптимальні умови лише для певних мікроорганізмів (наприклад, середовище Ешбі для азотфіксаторів); та диференційно-діагностичні середовища, які використовують для ідентифікації мікроорганізмів (наприклад, середовище з желатиною для виявлення

желатинази, середовище з кров'ю для визначення гемолітичної активності, середовище Ендо для виявлення кишкової палички.

Найважливіші хімічні елементи (вуглець, азот, фосфор та сірку) мікроорганізми споживають у різних формах.

Джерелами вуглецю можуть бути органічні речовини – цукри, спирти, органічні кислоти, амінокислоти та неорганічні – карбонати, діоксид та монооксид вуглецю.

Джерелами азоту можуть бути неорганічні сполуки (амонійні солі, нітрати, молекулярний азот) та неорганічні (амінокислоти). Найдоступнішим джерелом азоту для мікроорганізмів є амонійний азот, який має ступінь окислення (N^{3-}), бо саме в такому вигляді він включається в процес біосинтезу амінокислот. Для включення нітратного азоту в біосинтез мікроорганізмів потрібно спочатку його відновити з N^{5+} до N^{3-} . Цей процес називається асиміляторною нітратредукцією і потребує затрат енергії. Зв'язування молекулярного азоту називається **азотфіксацією** і є ще більш енергозатратним, тому азотфіксація притаманна лише певним мікроорганізмам. Деякі мікроорганізми використовують як джерело азоту амінокислоти, які одночасно можуть бути і джерелом вуглецю.

Універсальним джерелом фосфору для мікроорганізмів є фосфатні солі.

Джерелом сірки для більшості мікроорганізмів є сульфати. Для включення сульфатної сірки в біосинтез, її спочатку необхідно відновити з S^{6+} до S^{2-} . Цей процес називається асиміляторною сульфатредукцією і потребує енергетичних затрат.

Речовини, що поглинаються мікроорганізмами, мають забезпечити їх енергією, необхідною для активного біосинтезу, відновленими еквівалентами (тобто електронами), які потрібні для функціонування дихального ланцюга, фотосинтетичних електронтранспортних

систем та процесів анаболізму, та вуглецем, який є основним клітинним компонентом.

3. Фази росту і розмноження мікроорганізмів

Бактерії розмножуються, як правило, безстатевим шляхом — поділом материнської клітини на дві дочірні. Поділ відбувається дуже швидко і йому передуює реплікація ДНК. За сприятливих умов деякі бактерії діляться кожні 20-30 хв. Іноді дві бактерії зливаються одна з одною. Під час такого злиття між ними утворюється цитоплазматичний місток, по якому речовини однієї клітини переходять в іншу. Такий процес нагадує статеве розмноження.

Отже, ріст бактерій — це збільшення кількості компонентів в клітині, її розмірів і маси.

Розмноження бактерій — це збільшення числа клітин в популяції.

Прокаріоти розмножуються бінарним діленням. Також відомі факти кон'югації (статеве розмноження). В штучних умовах на незмінному поживному середовищі розмноження відбувається за певними закономірностями

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.

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 спороутворюючих мікроорганізмів йде процес утворення спор.

До причин загибелі мікроорганізмів відносяться лізіс власними ферментами (цей процес проходить у лізосомах), накопичення токсинів-метаболітів життєдіяльності та збіднення поживного середовища.

4. Методи культивування мікроорганізмів Культивування називається вирощування мікроорганізмів на поживних середовищах.

Методи культивування є дуже різноманітними і служать різним цілям: наприклад, у виробництві антибіотиків або інших біологічно активних речовин, умови культивування (склад середовища, t_0 , рН та ін.) націлені на одержання метаболітів (продуктів виділення мікроорганізмів, що накопичуються у культуральній рідині або безпосередньо у мікробних клітинах). У виробництві ж дріжджів умови культивування націлені на одержання максимальної біомаси. Дуже велике значення для культивування має також поживне середовище. Поживні середовища діляться на **тверді** (з агар-агаром) та **рідкі**.

На твердих середовищах головним досягненням є можливість одержання окремих колоній.

Колонія – це потомство однієї клітини, яка потрапила на агаризоване середовище.

За виглядом колоній можна розрізнити окремі види мікроорганізмів.

На рідких середовищах це неможливо. Рідке середовище із клітинами, що там ростуть називається **культуральною рідиною**.

Мікробіолог повинен добре володіти технікою посіву на рідкі і тверді середовища. Усі роботи проводять перед полум'ям пальника, де утворюється стерильна зона і де можна простерилізувати головний інструмент мікробіолога — мікробіологічну петлю. Крім того, на полум'ї при посіві пропалюють корки та краї пробірок.

При роботі із **стерильними середовищами** потрібно звернути особливу увагу на те, що:

- при розливі стерильних середовищ пробірки обов'язково потрібно тримати в нахиленому положенні (для запобігання залітання спор із повітря), а у чашок Петрі – ніколи повністю не відкривати кришку;

- перед пересівом бактерій потрібно обов'язково охолодити петлю, а після пересіву обов'язково її простерилізувати і поставити в штатив;

- при мірному розливі поживних середовищ або бактеріальних суспензій потрібно відкривати піпетку не з носика, а з протилежного боку.

Глибинний посів використовують для одержання як аеробів (ростуть на поверхні чашки), так і анаеробних організмів (ростуть у товщі агару, на дні чашки). Якщо потрібно одержати глибинний посів на рідкому середовищі, то колбу з культурою треба весь час струшувати на качалці (наприклад, для вирощування мікроскопічних грибів).

В процесі посіву факультативних анаеробів (дріжджі) голкою у товщу стовпчика потрібно звернути увагу на те, що пробірку необхідно тримати догори ногами для запобігання потрапляння у пробірку забруднювачів з повітря!

При посіві анаеробних мікроорганізмів головною метою є одержання середовища без кисню. Для цього:

а) розливають нагріте середовище, заливають його стерильною олією і через олію роблять засів;

б) вносять рідке або тверде середовище в пробірку, продувають його аргонном або азотом із балона, герметично перекривають корком. В середовища можна додавати деякі відновники, що поглинають залишки кисню (наприклад, Fe_2^+ , пірогалол, цистеїн та т.ін.)

в) але найпростіший спосіб – це високий стовпчик, перекритий гумовим корком;

г) чашки з анаеробами наливають агаром "під кришки" та вміщують:

- в анаеростат (ємність, з якої насосом відкачується повітря);

- вакуумний ексікатор, на дно якого можна помістити хімічні поглиначі кисню (гіпосульфід Na, пірогалол і т.ін.);

д) для облігатних анаеробів існує складна техніка культивування в атмосфері інертного газу, з постійною перевіркою на відсутність кисню.

Посів на чашку Петрі мікроскопічних грибів за допомогою гачка.

Для посіву мікроскопічних грибів у чашку Петрі, чашку необхідно перевернути догори дном і в такому вигляді відкрити в межах стерильної зони.

Кінчиком гачка, на якому містяться спори, конідії або грибний міцелій, потрібно доторкнутися до центру агарового диску. Чашку Петрі (у перевернутому вигляді) помістити в термостат і культивувати при $t=24-20^{\circ}\text{C}$ (зметою запобігання осідання грибних конідій та спор на поверхню агару).

Техніка посіву суміші мікроорганізмів за допомогою шпателя на чашку з МПА

Посів (або пересів) завжди проводять поблизу спиртівки. Запаліть спиртівку. Пробірку з сумішшю бактерій (перша пробірка) та пробірку з 4 мл фізіологічного розчину (друга пробірка) візьміть у ліву руку. Одну пробірку затисніть між вказівним та середнім пальцями (перша пробірка), так щоб нижній кінець її вільно лежав на великому пальці (з його лівого боку). Другу пробірку затисніть між середнім та безіменним пальцями. Вона має лежати паралельно першій. Її нижній кінець розташовується з правого боку великого пальця. Великий палець, що міститься між пробірками, повинен знаходитися у природному, ненапруженому стані і злегка підтримувати пробірки в паралельному відносно одна одної положенні.

При взятті матеріалу пробірки мають знаходитися у нахиленому положенні, що гарантує стерильність культури. При вертикальному положенні пробірок можливе потрапляння з повітря сторонніх мікроорганізмів.

У полум'ї спиртівки ретельно прокаліть бактеріологічну петлю, тримаючи її в правій руці. Мізинцем правої руки вийміть з другої пробірки ватну пробку і затисніть її між пальцями та долонею. Пробку першої пробірки затисніть між безіменним та середнім пальцями правої руки. За допомогою петлі візьміть одну петлю суміші кишкової палички та стафілокока та внесіть в другу пробірку з 4 мл стерильного фізрозчину. Після цього одну петлю розведеної суміші нанесіть на поверхню МПА в чашці Петрі. Краї пробок, перед тим як закрити пробірки, обпалюють у полум'ї. Петлю прокаліть та поставте в штатив. Стерильним шпателем розітріть краплю по всій поверхні МПА.

Шпатель після посіву опустіть в дезінфекуючий розчин. Чашки переверніть догори дном, підпишіть та поставте в термостат на одну добу при температурі 37°C.

Характеристика колоній - важлива складова частина роботи бактеріолога і лаборанта, адже мікроорганізмам кожного виду притаманні свої особливі колонії. (додаток)

Характеризувати колонії можна за різними **ознаками**:

- 1) За **величиною** (діаметром) вони поділяються на великі (4-6 мм і більше), середні (2-4 мм), дрібні (1- 2 мм), карликові або точкові (менше 1 мм).
- 2) **Форма колоній** може бути найрізноманітнішою: правильно кругла, неправильна (амебоподібна), ризоїдна.
- 3) Вони бувають прозорими, що пропускають світло, і мутними.
- 4) За **рельєфом і контуром форми** у вертикальному розрізі колонії поділяються на плоскі, опуклі, куполоподібні, каплеподібні, конусоподібні. плоскоопуклі, плоскі, що стеляться по поверхні середовища, із вдавленим центром, з припіднятою у вигляді соски серединою.

Поверхню колоній вивчають спочатку неозброєним оком, а потім за допомогою лупи чи малого збільшення мікроскопа. Вона може бути матовою або блискучою, з глянцем, сухою або вологою, гладенькою або шорсткою. Гладенькі колонії позначають як S-форми (smooth - гладенький), а шорсткі - R-форми (rough - шорсткий, нерівний).

Форма шорстких поверхонь також може бути різноманітною: зморшкуватою, бородавчастою, шагреневою, мати радіальну посмугованість тощо.

Переважна більшість мікроорганізмів утворює безбарвні колонії або мутно-молочного кольору. Однак деякі з них формують кольорові колонії. Їх колір визначається пігментом, який синтезують бактерії: білі, кремові, жовті, золотисті, сині, червоні тощо.

Структуру колоній досліджують у прохідному світлі при малому збільшенні мікроскопа. Вони можуть бути гіалінові, зернисті, ниткоподібні і чи волокнисті, які характеризуються наявністю переплечених ниток у товщі колоній.

При доторканні до колонії петлею можна визначити її консистенцію: пастоподібна, в'язка або слизова, суха, крихка тощо.

На рідких живильних середовищах бактерії також можуть рости по-різному хоча особливості проявів росту бідніші, ніж на щільних.

Бактерії здатні викликати дифузне помутніння середовища, колір його при цьому може не змінюватись або набуває кольору пігменту. Такий характер росту найчастіше спостерігається у більшості факультативно-анаеробних мікроорганізмів.

Деколи відбувається утворення осаду на дні пробірки. Він може бути крихтоподібним, гомогенним, в'язким, слизистим та ін. Середовище над ним може залишатись прозорим або ставати мутним. Якщо мікроби пігменту не утворюють, осад має сірувато-білий або жовтуватий колір. Подібним чином ростуть, як правило, анаеробні бактерії.

Пристінковий ріст проявляється утворенням пластівців, зерен, прикріплених до внутрішніх стінок пробірки. Середовище при цьому залишається прозорим.

Аеробні бактерії мають тенденцію до поверхневого росту. Часто утворюється ніжна безбарвна або голубувата плівка у вигляді ледь помітного нальоту на поверхні, яка зникає при струшуванні або збовтуванні середовища. Плівка може бути волога, товста, мати в'язку, слизову консистенцію та прилипати до петлі, тягнучись за нею. Однак, зустрічається й щільна, суха, крихка плівка, колір якої залежить від пігменту, що виробляється мікроорганізмами.

Зверніть увагу на наявність різних колоній на чашці Петрі. Стафілокок утворює золотистий пігмент, колонії середнього розміру, рівномірно опуклі, з

рівними краями. Кишкова паличка утворює безбарвні, мутні колонії з блискучою поверхнею та рівними краями.

Питання для самоконтролю

1. Що таке чиста культура?
2. Пригадайте, які є методи отримання чистої культури?
3. Як культивують чисту культуру на виробництві?
4. Назвіть, які типи середовищ ви знаєте?
5. Назвіть вимоги до живильних середовищ?
6. Чому не існує єдиного поживного середовища для вирощування мікроорганізмів?
7. Пригадайте, основні стадії розвитку мікроорганізмів в поживному середовищі. Фаза відмирання та шляхи її запобігання.
8. Переваги і недоліки різних способів культивування мікроорганізмів?
9. Що таке ріст і розмноження мікроорганізмів?
10. Який найрозповсюджений спосіб розмноження?
11. Які поживні середовища ви можете приготувати?
12. Що таке агар-агар?

Тема 6. Найважливіші біохімічні процеси, викликані мікроорганізмами.

Бродіння

План

1. Найважливіші біохімічні процеси, викликані мікроорганізмами
2. Спиртове бродіння
3. Молочнокисле бродіння
4. Пропіновокисле бродіння
5. Маслянокисле бродіння

1. Найважливіші біохімічні процеси, викликані мікроорганізмами

Здатність мікробів активно перетворювати різні сполуки в процесах дихання і харчування широко використовуються людиною для отримання цінних харчових продуктів. Завдяки цьому мікроорганізми можуть також бути винуватцями їх псування. На особливу увагу заслуговують процеси перетворення речовин під час дихальних процесів(в основному анаеробних)- типові бродіння.

Бродіння— анаеробний окисно- відновлювальний процес, що викликають як живі клітини мікроорганізмів, так і ферменти, що вони виділяють.

У 1857р. біологічна природа бродіння, яку викликають живі клітини мікроорганізмів, була доведена Луї Пастером. Пізніше(1897р.) Едуард Бухнер встановив, що бродіння має місце і у без клітинному середовищі – сік зруйнованих дріжджових клітин- біохімічним шляхом. За своє відкриття в 1907р. Він одержав Нобелівську премію з хімії.

На перших стадіях бродіння або окислення вуглеводів з'являється **піровіноградна кислота (піруват)**.

В анаеробних умовах піровіноградна кислота перетворюється до спирту, молочної, масляної кислоти та інших продуктів. В анаеробних умовах вона

окислюється до оцтової , лимонної або іншої органічної кислоти, а при повному окисненні з'являються діоксид вуглецю і води.

Таким чином, *процес бродіння протікає в дві фази:*

1) в початковій або загальній фазі, яка проходить в анаеробних умовах, глюкоза розщеплюється до піровіноградної кислоти;

2) кінцева фаза залежить від умов культивування та особливостей мікроорганізму при цьому утворюються різні продукти.

Перетворення органічних речовин супроводжується виділенням енергії, яка акумулюється в процесі фотосинтезу, що частково в виді тепла використовується мікробною клітиною або виділяється в навколишнє середовище. Між бродінням і диханням багато спільного, але при диханні окислення речовин іде до кінця – до утворення діоксиду вуглецю і води, в той час як продукти бродіння вміщують ще багато енергії.

Отже, бродіння (ферментація) — це анаеробний метаболічний розпад молекул (наприклад, цукрози або глюкози) за допомогою мікроорганізмів з отриманням таких продуктів як етанол, вуглекислий газ, молочна кислота, оцтова кислота, етилен тощо. Бродіння часто використовується для приготування або збереження продуктів харчування. Частіше, кажучи про бродіння, мають на увазі перетворення цукру на спирт за допомогою дріжджів, але, наприклад, при виробництві йогуртів використовується бродіння за допомогою інших бактерій.

У залежності від переважного накопичення при бродінні тих чи інших продуктів розрізняють **спиртове, молочнокисле, пропіоновокисле, маслянокисле, оцтовокисле, лимоннокисле бродіння та таке інше.**

Процеси бродіння протікають з використанням в основному вуглеводів(крохмалю, цукрів), але деколи вихідною сировиною можуть бути спирти, органічні кислоти і навіть білки.

2. Спиртове бродіння

Спиртове бродіння - це процес розкладу цукру на спирт та вуглекислий газ в результаті життєдіяльності мікроорганізмів.

Збудниками спиртового бродіння, як правило, є **дріжджі**, але деякі представники мукових грибів і деякі бактерії також можуть бути збудниками цього процесу. У промисловості використовують тільки дріжджі *Sach. ellipsoideus*, що належать до сімейства *Sacharomycetacea*, рід *Sacharomycetes*. Дріжджі, які спеціально культивують з метою промислового використання, називають культурними.

Хімізм. Процес спиртового бродіння відбувається за складною схемою, з утворенням цілої низки побічних продуктів цього процесу. **Побічними продуктами** спиртового бродіння є оцтова кислота, гліцерин, альдегіди, сивушні масла і деякі інші продукти. Біохімічні реакції в процесі спиртового бродіння проходять з участю різних ферментів, які знаходяться в кожній дріжджовій клітині.

Промислове значення. Спирт, що утворюється в результаті бродіння, пригнічує розвиток дріжджів. Більшість дріжджів може доводити вміст спирту в рідині, що бродить, до **12-16%**. Вищі концентрації спирту діють згубно на дріжджові клітини і вони гинуть. Тому натуральними називають тільки столові вина, в яких вміст спирту не перевищує 12%. Десертні й міцні вина, в яких вміст спирту перевищує 16%, - це вина спиртовані, тобто вміст спирту в них підвищується додаванням спирту - ректифікату.

Спиртове бродіння використовується також під час виготовлення хліба. Вуглекислий газ, який утворюється під час спиртового бродіння, піднімає тісто, розпушує його, і після випікання отримують пишний пористий хліб. Разом з молочнокислим, спиртове бродіння використовують під час виготовлення молочних продуктів: кефіру, кумису, а також під час квашення плодів та овочів. Спиртове бродіння може приносити і шкоду. Наприклад, свіжі ягоди можуть псуватись в результаті розвитку на них дріжджів. Такі ягоди мають присмак спирту (колючий смак). Потім такі ягоди закисають під впливом оцтовокислих бактерій, що окислюють спирт до оцтової кислоти. В результаті спиртового бродіння можуть також псуватись варення та мед.

Оптимальні умови спиртового бродіння. Великий вплив на інтенсивність спиртового бродіння має концентрація цукру в рідині, що бродить. Найкраще проходить спиртове бродіння при концентрації цукру 15%. Суттєвий вплив на процес спиртового бродіння має також температура та реакція середовища. Найсприятливішою температурою для спиртового бродіння є температура 30°C. Процес спиртового бродіння проходить нормально, якщо реакція рідини, що бродить, кисла. Оптимальне значення величини рН для спиртового бродіння перебуває у межах 4-5. Збудники спиртового бродіння - дріжджі є факультативними анаеробами, тому процес спиртового бродіння краще проходить, коли відсутній кисень повітря.

3. Молочнокисле бродіння

Роль молочнокислих бактерій в процесах псування харчових продуктів. Молочнокисле бродіння - це процес перетворення цукру в молочну кислоту в результаті життєдіяльності молочнокислих бактерій. Хімізм молочнокислого бродіння.

Молочнокислі бактерії поділяють на 2 групи:

- 1) Гомоферментативні;
- 2) Гетероферментативні.

Гомоферментативні молочнокислі бактерії із цукру утворюють лише молочну кислоту.

Гетероферментативні молочнокислі бактерії завдяки ферментам із цукру утворюють молочну, янтарну, оцтову кислоти, етанол, вуглекислий газ і воду.

Молочнокислі бактерії належать в основному до роду **Streptococcus**і мають кулеподібну або овальну форму клітини, що утворюють ланцюжки; та до роду *Lactobacillus*, клітини, якого є нерухомими, аспорогенними паличками (поодинокими або у вигляді ланцюжків).

Всі молочнокислі бактерії грампозитивні, факультативні анаероби, вимогливі до складу поживного середовища., потребують повного набору нуклеїнових кислот і вітамінів групи В.

Молочнокислі бактерії утворюються від 1% до 3% молочної кислоти та розвиваються при рН 4. Серед молочнокислих бактерій є мезофіли і термофіли.

Найважливішими представниками типових молочнокислих бактерій є:

Streptococcus lactis (молочний стрептокок) - коки, діаметром майже 1мк, з'єднані в короткі ланцюжки або попарно. Вони завжди присутні в молоці і найчастіше викликають самоскисання. Оптимальною температурою для їхнього розвитку є температура 36°C. *Str. cremoris* - діаметр клітини не більше 0,7 мк, утворюють довгі ланцюги. Ферментують лактозу, глюкозу і галактозу, мальтозу і сахарозу не перетворюють. Оптимальна температура розвитку 30° С.

Bact. bulgaricum (болгарська паличка) - довжина клітини майже 5 мк. Палички з'єднані в ланцюги. Ферментують глюкозу, фруктозу, галактозу, лактозу, сахарозу і мальтозу не ферментують. Оптимальна температура розвитку 40-45°C, тобто болгарська паличка належить до термофільних бактерій. Вона накопичує значну кількість молочної кислоти - до 3,5 %.

Bact. casei (сирна паличка) - довжина клітини майже 6 мк. Ферментує мальтозу, лактозу, глюкозу і фруктозу. Оптимальна температура - 40°C. Використовується під час виробництва сиру.

Bact. acidophilum (ацидофільна паличка) - довжина клітини майже 5 мк. Ферментує лактозу, мальтозу, сахарозу і глюкозу. Оптимальна температура - 40°C. Накопичує до 2,5 % кислоти.

Нетипових молочнокислих бактерій надзвичайно багато. Практичний інтерес мають так звані ароматоутворюючі бактерії видів

Str. paracitrovorus, *Str. citrovorus*, *Str. diacetylactis*. Ці бактерії утворюють значну кількість летких кислот, вуглекислого газу і ацетил-метилкарбінолу, який під час окислення переходить в діацетил. Останній надає продуктам, зокрема маслу, особливого аромату. Завдяки цьому названі культури широко використовуються у різних галузях молочної промисловості, зокрема в маслоробній. Із інших **гетероферментативних молочнокислих бактерій**

можна назвати: *Zeusconostoc cremoris* - витягнені коки, що можуть розташовуватись поодинокі, парами, або у вигляді коротких ланцюжків. Вони також, крім цукру, перетворюють лимонну кислоту та її солі з утворенням діацетилу. Оптимальна температура розвитку -20-25°C. Вживаються в комбінованих заквасках з метою ароматизації продукту.

Практичне застосування при виробництві. Під час виробництва кисломолочних продуктів на промислових підприємствах самоскисання молока не застосовується. Молоко, яке завозять на заводи, пастеризують. При цьому більшість бактерій гине. Гинуть і всі молочнокислі бактерії, тому що вони не здатні до спороутворення. Після пастеризації молоко заквашують заквасками, виготовленими із чистих культур молочнокислих бактерій. Молочнокислі бактерії перетворюють цукор, що є в молоці - лактозу - на молочну кислоту. Остання викликає коагуляцію головного білка молока - казеїну. Утворюється згусток.

Молочнокислі бактерії застосовуються під час виробництва всіх дієтичних молочнокислих напоїв, ацидофільної пасти, кисломолочного сиру, сметани, сичугових сирів. Завдяки наявності живих молочнокислих бактерій молочнокислі напої мають лікувально-профілактичне значення. Молочнокислі бактерії використовуються також під час виготовлення житнього хліба. Молочна кислота, що утворюється при ферментації тіста, сприяє набряканню білків, розвитку дріжджів і покращує смак хліба. Процес молочнокислого бродіння має місце і **під час квашення овочів**. Квашені овочі добре зберігаються, тому що в кислому середовищі не можуть розвиватися збудники гниття. Шляхом **силосування консервують** траву, кукурудзу, гичку картоплі, буряків та ін. для худоби. Молочнокисле бродіння застосовують також для отримання молочної кислоти. Остання має дуже широке застосування в різних галузях промисловості. Її використовують у шкіряній промисловості для декальцинування (усунення вапна) із шкіри. В текстильній промисловості вона використовується як протрава під час фарбування тканин. Та особливе значення має молочна кислота в харчовій промисловості, де її

використовують замість лимонної під час виробництва кондитерських виробів, безалкогольних напоїв, консервів та інших товарів. Широко використовується молочна кислота та її солі в медицині.

Молочнокислий магній - це послаблюючий засіб; молочнокислий кальцій використовується при захворюванні на рахіт; чиста молочна кислота - для припалювання. Отримують молочну кислоту із картоплі та зерна, а також іншої крохмале - і цукромісткої сировини. Треба мати на увазі, що спонтанне (самовільне) молочнокисле бродіння в продуктах (в молоці, вині, пиві, безалкогольних напоях та ін.) може завдавати великої шкоди, призвести до скисання, помутніння, ослизнення та інших видів псування цих продуктів.

4. Пропіоновокисле бродіння

Пропіоновокисле бродіння - це перетворення цукру або молочної кислоти та її солей в пропіонову і оцтову кислоти, вуглекислий газ та воду в результаті життєдіяльності пропіоновокислих бактерій.

Підсумувати цей процес можна такими рівняннями:



Збудниками пропіоновокислого бродіння є так звані пропіоновокислі бактерії роду *Bacterium*. Типовим представником цих бактерій є *Bact. acidipropionici*. Це короткі, безспорові, нерухомі, грампозитивні палички, дуже близькі за морфологічними і фізіологічними ознаками до молочнокислих бактерій, і тому часто розвиваються разом з ними.

Оптимальна температура їх розвитку 30-35°C, але добре ростуть і при 15-25°C. Гинуть при 60-70°C. Дуже велику роль відіграють пропіоновокислі бактерії в сироварінні, бо саме пропіоновокисле бродіння – один із найважливіших процесів при дозріванні сирів. Молочна кислота, що утворюється в сирній масі в результаті молочнокислого бродіння, та її кальцієва сіль перетворюється пропіоновокислими бактеріями в пропіонову і оцтову кислоти та вуглекислий газ. Пропіонова кислота зумовлює типовий сирний гострий смак і запах сичугових сирів. Характерний приємний

солодкуватий смак деяких сирів (типу швейцарського) зумовлює пропіоновокислий кальцій, а відокремлення вуглекислого газу призводить до утворення характерного малюнку сиру (великі, не густі, правильної кулястої форми "вічка"). Пропіонова кислота та її солі є інгібіторами плісені, завдяки чому використовуються з метою попередження пліснявіння різних продуктів, а також при виготовленні силосу. Деякі види пропіоновокислих бактерій синтезують вітамін В₁₂. Їх використовують для отримання чистого препарату цього вітаміну. В складі комбінованих з молочнокислими бактеріями заквасок їх використовують для природного збагачення різних продуктів цим життєво необхідним вітаміном.

5. Маслянокисле бродіння

Роль маслянокислих бактерій в процесах псування харчових продуктів.

Маслянокисле бродіння - це процес розкладу цукру на масляну кислоту, вуглекислий газ та водень в результаті життєдіяльності маслянокислих бактерій.

Збудники маслянокислого бродіння - маслянокислі бактерії – ферментують не тільки моносахариди, але й дисахариди і полісахариди (крохмаль, декстрини, пектинові речовини) і солі молочної кислоти. Маслянокислі бактерії - облигатні (строгі) анаероби. Кисень повітря для них є отрутою.

Збудники маслянокислого бродіння дуже чутливі до кислотності середовища. Оптимальне значення рН 6,9-7,4. Оптимальна температура розвитку маслянокислих бактерій 30-40°C. Всі маслянокислі бактерії мають форму паличок і утворюють спори. Відносяться до роду *Clostridium* (спори звичайно розташовуються в центрі палички і вона нагадує веретено). Зустрічається доволі багато видів маслянокислих бактерій. Найбільш типовими представниками є такі: *Clostridium butyricum*, *Cl. Sacharobutyricum* і *Clost. Pasteurianum*. Характерною морфологічною особливістю всіх маслянокислих бактерій є вміст в клітинах запасної поживної

крохмалеподібної речовини - гранульози (у вигляді зерен-гранул), що забарвлюється йодом в **синьофіолетовий колір**.

Маслянокислі бактерії широко розповсюджені в природі. **Вони завжди є в ґрунті, в гної, на дні озер та рік**. Наявність маслянокислих бактерій в продуктах харчування говорить про забруднення їх землею чи гноєм. В природі маслянокисле бродіння має позитивне значення як ланка в ланцюгу кругообігу речовин (перетворення органічних речовин в неорганічні). Псування. Так, маслянокислі бактерії і маслянокисле бродіння є причиною псування різних харчових продуктів. Наприклад, масового псування картоплі. Те, що в побуті називають гниттям картоплі, -найчастіше є розкладом крохмалю маслянокислими бактеріями (мокра гниль картоплі). Маслянокислі бактерії можуть стати причиною псування й інших овочів. Розвиваючись в харчових продуктах, маслянокислі бактерії утворюють масляну кислоту, а остання надає продуктам гіркого смаку і неприємного запаху. Завдяки здатності до спороутворення, маслянокислі бактерії є причиною псування пастеризованих продуктів. Скисання пастеризованого молока (щільно закритого) зумовлене розвитком маслянокислих бактерій, що не гинуть при пастеризації.

Маслянокислі бактерії є також причиною псування сирів. Масляна кислота надає їм неприємного смаку, і, крім того, через виділення величезної кількості газів (вуглекислого газу й водню) є причиною здуття сирів. Маслянокислі бактерії є причиною псування овочевих та фруктових консервів, при виробництві яких застосовували тільки пастеризацію (бомбаж банок), згіркнення зволоженої муки та ін. При уповільненому молочнокислому бродінні вони можуть стати причиною псування квашених овочів, надавати їм гострого прогірклого смаку та різкого неприємного запаху.

Промислове значення

Масляна кислота має дуже різкий, неприємний кисло-гіркий смак, але її складні ефіри мають прекрасний запах (метиловий ефір -яблучний, етиловий - грушевий, аміловий - ананасний). Ці ефіри широко використовуються в

кондитерській промисловості при виробництві безалкогольних напоїв, а в парфумерії - як ароматичні речовини.

Тема 7. Основи мікробіологічного і санітарно-гігієнічного контролю

План

1. Основи мікробіологічного і санітарно-гігієнічного контролю
2. Санітарно-показові мікроорганізми
3. Дезінфекція в харчовому виробництві

1. Основи мікробіологічного і санітарно-гігієнічного контролю

Метою мікробіологічного контролю продовольчої сировини і харчових продуктів є визначення відповідності якості продукту мікробіологічним показникам, що встановлені для нього. Мікробіологічні показники, що характеризують безпеку продукту і право на його використання, наведені у нормативній і технологічній документації на даний продукт і є обов'язковим критерієм оцінки якості продукту при санітарно-мікробіологічному контролі. Норми регламентуються законом. Санітарно-мікробіологічний контроль продовольчої сировини і харчових продуктів, що виробляються в державі, здійснюють органи **санітарного нагляду**, а також **виробничі та відомчі лабораторії**, що мають на це дозвіл санітарної служби держави.

Контроль безпеки продуктів харчування здійснюється на всіх етапах обігу продуктів харчування: при переробці продовольчої сировини, виробництві харчових продуктів, а при необхідності - і на етапах руху до споживача (зберігання, реалізація). Враховуються норми при розробці нового товару. Нормативи безпеки харчових продуктів за мікробіологічними показниками містять контроль за чотирма групами мікроорганізмів:

- **санітарно-показові**, до яких відносять мезофільні аеробні і факультативно-анаеробні мікроорганізми (КМАФАМ) і бактерії групи кишкових паличок (БГКП), в тому числі *E. coli*;

- **потенційно-патогенні** мікроорганізми, до групи яких входять *S. aureus*, бактерії роду *Proteus*, *B. cereus* і сульфїтредукуючі клостридії;
- **патогенні мікроорганізми**, в тому числі сальмонели;
- **мікроорганізми псування**, до яких належать плісеневі гриби, дріжджі.

2. Санітарно-показові мікроорганізми

Санітарно-показові мікроорганізми є індикаторами при альтернативному методу визначення якості продукта і дозволяють визначити небезпечність продукта з точки зору епідемії, виникнення отруєння, а також оцінити ефективність техніки термічних обробок продукта і дати оцінку санітарно-гігієнічного стану.

Такі санітарно-показові мікроорганізми, як *кишкова паличка*, *фекальні ентерококи*, *сульфїтредукуючі клостридії* та протесу є показниками можливої присутності в об'єктах зовнішнього середовища збудників кишкових захворювань. Наявність в об'єктах зовнішнього середовища стрептококів та стафілококів є свідченням можливості присутності збудників інфекцій дихальних шляхів.

Кишкова паличка (*Escherichia coli*) має найбільше значення як санітарно-показовий мікроорганізм. Бактерії роду *Escherichia* – це дрібні рухливі грам негативні палички, що не утворюють спор, не володіють оксидажною активністю, ферментують лактозу і глюкозу з утворенням кислоти та газу. Вони є факультативними анаеробами, добре ростуть в універсальних живильних середовищах, стійкі до дії багатьох анілінових барвників, не розріджують желатин, здатні ферментувати ряд вуглеводів – лактозу, глюкозу, мальтозу, сахарозу з утворенням кислоти і газу.

Для диференціації використовують середовище Ендо, на якому *Escherichia coli* дає характерний ріст у вигляді колоній червоного кольору з металевим блиском. Середовище Ендо є селективним середовищем для ентеробактерій, у його склад входять МПА, лактоза, фуксин основний, сульфат і фосфат натрію.

Виявлення бактерій роду *Escherichia* в харчових продуктах, у воді, ґрунті, на устаткуванні свідчить про свіже фекальне забруднення цих об'єктів. Наявність кишкової палички свідчить про ризик харчового отруєння. Виявлення кишкової палички проводять для визначення правильності проведення термічної обробки при виготовленні ковбасних виробів, пастеризації молока тощо, а також при дослідженні санітарно-гігієнічного стану виробництва, оцінці ефективності застосування дезінфектантів, миття обладнання, апаратури та рук працівників харчового виробництва. Державним стандартом і Санітарними правилами і нормами обмежено кількість кишкової палички в одиниці продукту.

Кількість кишкової палички в об'єктах зовнішнього середовища характеризують двома показниками: колі-титром та колі-індексом.

Колі-титр – це найменша кількість досліджуваного матеріалу, в якій виявлено одну клітину кишкової палички. Чим менша величина колі-титру, тим більш небезпечний даний об'єкт у епідеміологічному відношенні.

Колі-індекс – це кількість клітин кишкової палички в одиниці об'єму або маси досліджуваного матеріалу.

Ентерококи поряд з бактеріями групи кишкових паличок є постійними мешканцями кишечника людини і теплокровних тварин, які у великій кількості виділяються в зовнішнє середовище. Їх виявлення у харчових продуктах, воді, ґрунті свідчить про свіже фекальне забруднення цих об'єктів.

Ентерококи або фекальні стрептококи відносяться до роду *Streptococcus*. Ентерококи це грампозитивні коки, що розміщуються попарно або утворюють короткі ланцюжки. Ростуть вони при температурі від 10 до 45 °С, оптимальна температура розвитку – 37 °С. Для визначення ентерококів в чистій культурі з об'єктів, густо засіяних сторонньою мікрофлорою, частіше використовують селективне молочне середовище Каліні з поліміксином.

Ентерококи надзвичайно стійкі до низьких температур, нагрівання, хлорування, до підвищених концентрацій цукру і солі, до високої кислотності. В зовнішньому середовищі вони відмирають швидше, ніж кишкова паличка.

У воді і ґрунті не розмножується. Тому ентерококи є показником свіжого фекального забруднення.

В Україні ентерококи поряд з бактеріями групи кишкової палички використовують як санітарно показові мікроорганізми при санітарній оцінці води відкритих водоймищ, особливо колодязів, вода яких використовується в технологічному процесі.

Серед численних патогенних і сапрофітних видів роду *Clostridium* як санітарно-показові використовують ті, постійним місцем перебування яких є кишечник людини і теплокровних тварин. Найбільш частим мешканцем кишечника людини є *C. perfringens*. Використання *C. perfringens* у якості санітарно-показового мікроорганізму ґрунтується на тому, що його спори в зовнішньому середовищі не мають високої стійкості, у харчових продуктах він розмножується тільки при температурі 18-20 °C і вище, через 6-8 годин зберігання продукту його розмноження сповільнюється, а згодом зовсім припиняється. Особливо чутливий *C. perfringens* до кислої реакції середовища.

Оскільки тільки клостридії кишкового надходження мають редукуючі (відновлюючі) властивості при рості на залізульфідних середовищах і утворюють на них колонії чорного кольору, ця ознака є основною для судження про санітарну показовість таких мікроорганізмів.

Визначення сульфїтредукуючих клостридій здійснюється шляхом висіву визначеної кількості продукту і його розведень у пробірки з напіврідким селективно-діагностичним сульфїт-залізним середовищем та культивуванні посіву при 37 °C протягом 24-72 годин. При обліку результатів визначають мінімальну кількість продукту, у якому виявлені грампозитивні нерухомі палички, що утворюють яйцеподібні або кулясті спори та редукують сульфїт.

Бактерії роду *Proteus* широко розповсюджені в природі, в основному в місцях, де відбувається аеробні процеси гнильного розпаду. З кишечника ці мікроорганізми виділяються у 5-10% здорових людей. У ви породженнях

коней, рогатої худоби, гризунів і інших тварин присутність паличок протей більш часта.

Температурний діапазон росту бактерій грипи протей лежить у межах 10-40 °С. Вони нетерmostійкі- гинуть при прийнятих у промисловості режимах пастеризації, але стійкі до заморожування, дії антибіотиків і хімічних препаратів.

Бактерії групи протей можуть розвиватися в харчових продуктах, що містять білки. Чисті культури протей при рясному розмноженні протягом 2-3 діб можуть не викликати змін органолептичних властивостей, зовнішні ознаки гниття з'являються лише в результаті спільної дії протей і спороутворюючих гнильних аеробів.

Група протей не має самостійного значення як показник фекального забруднення. Однак її присутність у великих кількостях в харчових продуктах свідчить про наявність розкладу білка. При вмісті 1-2 млрд. клітин у 1 см³ харчові продукти небезпечні для вживання і можуть служити причиною харчового отруєння внаслідок виділення з загиблих клітин протей ендотоксину з ентеротропною дією і гемолізи.

Стафілококи як санітарно-показові мікроорганізми часто використовують при оцінці стану повітря, гігієнічного стану лікувальних і дитячих установ, де є небезпечним розвиток патогенних стафілококів. Для харчових продуктів цей показник має інше значення, тому що занепокоєння викликає не патогенність стафілококів, а їхня здатність виробляти ентеротоксин, що обумовлює харчові інтоксикації.

З метою санітарно-гігієнічної оцінки продукти досліджують на наявність *Staphylococcus aureus*. Методи виявлення стафілококів засновані на їх здатності рости на середовищах з підвищеним вмістом кухарської солі. Для виділення культур токсигенних стафілококів і з метою диференціації їх від сапрофітів частіше використовують елективно-диференціальні живильні середовища - жовточно-сольовий агар (ЖСА) і молочно-сольовий агар (МСА). Поряд з цим перевіряють наявність гемотоксину на середовищі Цейслера,

наявність плазмокоагулази, дезоксирибонуклеази, здійснюють фагодіагностику, імунодіагностику (використовують реакцію преципітації), проводять біопробу.

Дріжджі та плісені часто є збудниками псування молочних продуктів, у зв'язку з цим їх називають "технічно шкідливими" мікроорганізмами. Серед них присутні і патогенні представники, що можуть викликати мікози і мікотоксикози. Основний вид псування продуктів, що вони викликають – **"пліснявіння"**.

Плісняві гриби, потрапляючи в продукт і розвиваються гнильні бактерії. Дріжджі і плісені псують товарний вид продуктів, викликають гідроліз жиру з утворенням жирних кислот, що веде до згіркнення продуктів.

Плісені викликають гнильне псування продуктів і обумовлюють їх гіркий смак. Дріжджі обумовлюють ослизнення, що скорочує термін зберігання продуктів в охолодженому стані. Характерною особливістю дріжджів є їх здатність розвиватися в середовищах, що містять до 24% NaCl і до 60% сахарози.

Спори плісневих грибів постійно живуть у повітрі, ґрунті, гної, у продуктах, на поверхні різних предметів, стінах сирих приміщень та ін. Молочна плісень переважно живе в молочних продуктах. Плісені дуже стійкі до низьких температур. Як психрофіли, деякі плісені родів *Thamnidium*, *Rhizopus* і *Cladosporium* можуть розвиватися в холодильниках при 9-11 °С.

При посіві повітря цехових приміщень седиментаційним методом протягом 5 хвилин на щільному живильному середовищі повинно виявлятися не більше 15 колоній плісень і 19 колоній дріжджів.

3. Дезінфекція в харчовому виробництві

Дезінфекція – це сукупність заходів для повного, часткового або селективного знищення потенційно патогенних для людини збудників на різних об'єктах довкілля з метою попередження передачі збудника від джерела інфекції до сприйнятливого організму.

Оскільки мікроорганізми мають різну чутливість до дезінфікуючих засобів, виділяють **чотири ступені дезінфекції**: А, В, С, D.

1. **Дезінфекційні заходи ступеня А** – передбачають знищення аспорогенних форм мікробів, рикетсій, мікоплазм, найпростіших.
2. **Заходи ступеня В** – використовуються для ліквідації грибів, деяких вірусів, бактерій, що мають підвищену стійкість (стафілококи, мікобактерії).
3. Боротьба із збудниками особливо небезпечних інфекцій (чуми, холери, висипного тифу, меліоїдозу, сапу) вимагає **заходів ступеня С**.
4. Знищення спор мікроорганізмів і найпростіших – **заходів ступеня D**.

Заходи дезінфекції, що використовуються в клініках, мікробіологічних, вірусологічних та інших лабораторіях досить різноманітні. Їх умовно можна поділити на 2 групи: **фізичні та хімічні**.

До першої групи можна віднести спалювання використаного перев'язочного матеріалу, відходів, сміття, пропалювання в полум'ї пальника, дію сухого жару, автоклавування за різних режимів, використання ультразвуку. Ефективними заходами є кип'ятіння предметів особливо з поверхнево активними речовинами, дезінфекція повітря за допомогою ультрафіолетового опромінення. Постійно використовуються такі елементарні заходи, як вологе прибирання, миття, очищення, витріпування ковдр, простирадл тощо. Такі заходи хоча й не знищують мікроорганізмів, однак сприяють суттєвому зниженню їх популяцій на різних об'єктах.

Потужним комплексом дезінфекційних заходів виступають численні **хімічні препарати** – дезінфектанти. До них пред'являють певні вимоги:

- 1) протимікробний ефект широкого спектра дії;
- 2) висока розчинність у воді, здатність утворювати з водою або повітрям активні та стійкі суспензії, емульсії, аерозолі;
- 3) здатність не втрачати протимікробних властивостей при наявності в середовищі органічних домішок;
- 4) низька токсичність;

- 5) відсутність алергізуючої дії;
- 6) відсутність пошкоджуючого ефекту щодо предметів, які ними обробляються;
- 7) доступність сировини, з якої виготовляються дезінфектанти, її дешевизна тощо.

Існує декілька сотень дезінфікуючих засобів різних груп. Серед них **алкоголі, альдегіди, четвертинно-амонієві сполуки**. Найширше використання знайшли **хлоромісткі препарати**. До них належать 0,2-1,0 % хлорне вапно, яке виготовляють *ex tempore* з 10 % освітлених розчинів цієї речовини; 0,2-1,0 % розчини хлораміну В або Т; 5 % водні розчини гіпохлориду кальцію; 0,05-0,1 % розчин трихлорізоціанурової кислоти (диконіту); 0,1-0,2 % розчин сульфохлорантину. Окислювачі представлені 1-10 % розчином перекису водню, фенолами та їх похідними – 3-5 % розчинами лізолу, карболової кислоти, фенолу. До групи препаратів із солей важких металів належать мертиолят натрію, сулема. Широке застосування набули 2-3 % розчин формальдегіду, 3-10 % розчин крезолу та інші. Використовуються в практиці й газоподібні дезінфектанти – 40 % водний розчин формальдегіду, суміші окису етилену з вуглекислим газом (1:10) і окису етилену з бромідметилом (1:1).

На практиці виділяють **поточну та заключну дезінфекцію**.

Поточну дезінфекцію проводять для зменшення мікробної контамінації у вогнищах інфекції. Їй підлягають ліжка, постільна і натільна білизна, рушники, матраци, подушки, меблі, килими, посуд, інструменти, прилади, що знаходяться на поверхні різних об'єктів, повітря, виділення, стічні води тощо.

Зокрема, поверхні столів, вікон, стелі, стіни, меблі дезінфікують протиранням і миттям з допомогою дезінфікуючих розчинів, постільну та іншу білизну перуть у цих розчинах. Ліжка, матраци, подушки обробляють у спеціальних камерах термохімічними методами, м'які меблі – за допомогою спеціальних аерозолів, посуд – зануренням у дезінфікуючі розчини. Обробка виділень і стічних вод проводиться термічними і хімічними методами. Повітря

приміщень можна дезінфікувати пропусканням через спеціальні антибактеріальні фільтри, як це роблять в палатах гнотобіологічної ізоляції, або опромінюючи його ультрафіолетовими променями. Медичні інструменти, прилади спочатку очищають, дезінфікують, а потім, у разі потреби, стерилізують відомими способами.

Заклучна дезінфекція проводиться з метою знищення збудників інфекційних захворювань у приміщенні, де перебував інфекційний хворий, і предметах, з якими він був у контакті. Така ситуація складається після виписування його з інфекційного стаціонару, переводу із соматичного відділення в інфекційне тощо.

Для забезпечення догляду за проведенням дезінфікуючих заходів розроблену **спеціальну систему контролю**. Вона включає в себе: а) зовнішній і внутрішній контроль відділами дезінфекції санітарно-епідеміологічних станцій та лабораторій лікувально-профілактичних закладів, який здійснюється візуальним, бактеріологічним, біологічним, хімічним та іншими методами; б) бактеріологічний контроль проводять, виявляючи у вогнищах інфекції індикаторних бактерій: при кишкових захворюваннях – кишкові палички, при крапельних інфекціях, туберкульозі – стафілококи, у лікувально-профілактичних закладах – умовно-патогенні мікроорганізми; контроль здійснюється 1 раз у місяць – один раз у квартал залежно від рангу лабораторії; в) забір контрольних проб (10-30 штук) проводять не раніше, ніж через 30-45 хвилин після закінчення дезінфекції; площа змивів не повинна бути меншою, ніж 200 см²; г) змиви беруть стерильними ватними тампонами і засівають на живильні середовища з дотриманням всіх правил асептики з метою запобігання контамінації сторонньою флорою; для виділення бактерій групи кишкової палички і золотистих стафілококів користуються спеціальними наборами живильних середовищ і схемами ідентифікації, визначених відповідними інструкціями.

Дезінфікуючі заходи вважаються ефективними, якщо у пробах **не визначаються бактерії групи кишкової палички, умовно-патогенні мікроби, золотисті стафілококи**

Дезинсекція - комплекс заходів зі знищення шкідливих членистоногих, комах - переносників збудників хвороб (таргани, комарі, мухи, блохи, кліщі та ін), сільськогосподарських шкідників і ін комах . Методи дезінсекції: **фізичний** (гаряче повітря, водяна пара), **хімічний і біологічний метод дезінсекції** (мікроби, птиці).

Дератизація - комплекс заходів щодо боротьби з гризунами (миші, щури, кроти та ін) - джерелами або переносниками інфекційних хвороб або такими, що завдають економічних збитків; знищення і боротьба їх хімічними, механічними і біологічними методами; впорядкування збирання і видалення сміття; обладнання непроникних для гризунів місць зберігання продуктів.

На ринках. Адміністрація ринку повинна забезпечувати утримання територій загального користування, централізоване прання санітарного та спеціального одягу, миття та дезінфекцію торгового інвентарю, обладнання, засобів вимірювальної техніки, що надаються продавцям. Забезпечення постійного вивезення відходів і сміття, а також після закінчення роботи ринку, належне очищення (з вологим прибиранням) та дезінфекцію всіх приміщень, торгових об'єктів і торгових місць ринку. Поточне прибирання проводиться безперервно впродовж усього дня за умови захищеності продукції (товарів) від забруднення та дотримання норм охорони праці.

В торгових підприємствах: проводиться в м'ясному та рибному відділах, для запобігання розвитку шкідливих мікроорганізмів; загальне прибирання; дезінфекція інвентарю, устаткування та холодильного та іншого обладнання тощо.

Питання для самоконтролю

1. Перерахуйте зовнішні і внутрішні джерела інфекції в харчовій промисловості.
2. Які шляхи передачі патогенних мікроорганізмів?

3. Чому працівники, які працюють у харчовій промисловості мають мати санітарні книжки?
4. Що таке харчові інфекції? Харчові отруєння - це?
5. Які види токсинів утворюють мікроорганізмів?
6. Із споживанням яких харчових продуктів пов'язане захворювання ботулізмом?
7. Назвіть симптоми ботулізму?
8. Які харчові отруєння можуть викликати яйця водоплавної птиці?
9. Чому кишкова паличка прийнята як санітарно-показовий мікроорганізм?
10. Що таке дезінфекція? На які чотири ступені поділяють дезінфекцію?
11. Дератизація – це?
12. Як ви будете проводити контроль чистоти рук і одягу?
13. Розкажіть про метод визначення колі-титру у спеціях і прянощах?
14. Розкажіть про кишкову паличку?
15. Чому необхідно дотримуватись чистоти приміщення, обладнання, тари, спецодягу?