

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

# **МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДО ВИКОНАННЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ**

**з дисципліни «Технічна мікробіологія»**

***для спеціальності 5.05170108***

***«Зберігання, консервування та переробка плодів і овочів»***

***Викладач: \_\_\_\_\_ Ю.В. Нестерова***

**2018**

## Тема 1: **МОРФОЛОГІЯ І КЛАСИФІКАЦІЯ МІКРООГАНІЗМІВ**

### **План:**

1. Значення мікроорганізмів у природі, житті і діяльності людини
2. Рухомість, розмноження, спороутворення.
3. Будова міцелію, розмноження, класифікація.
4. Віруси, їх розміри, властивості, значення у житті людини.

### **1. Значення мікроорганізмів у природі, житті і діяльності людини**

Світ мікробів надзвичайно загадковий, неповторний. Мікроорганізми були першими мешканцями на нашій планеті. Біля 3 млрд. років тому вони сформували біосферу – найдавнішу оболонку біосфери Землі. Біомаса таких істот перевищує сумарну біомасу рослин та тварин.

Мікроорганізми – надзвичайно розповсюджені, невидимі неозброєним оком, переважно одноклітинні істоти. Їх виявляють у ґрунті, воді, повітрі, на поверхні та всередині організму людини, тварин і рослин, у льодах Антарктиди, на дні морів та океанів, у глибинах шахт та гейзерах. Мікробний світ планети надзвичайно різноманітний. Багато мікроорганізмів важливі у ланцюгу екологічних факторів, котрі забезпечують відносну стабільність умов, необхідних для існування інших істот, включаючи людину. За участю мікроорганізмів відбувається **мінералізація** органічних решток та **синтез** складних сполук. Торф, кам'яне вугілля, нафта, природний газ – теж продукти життєдіяльності мікроорганізмів.

Серед мікроорганізмів є види надзвичайно корисні для людини і тварин. Їх широко використовують у харчовій промисловості, як **джерело** ферментів, вітамінів, амінокислот, антибіотиків та інших біологічно активних речовин. Останнім часом інтенсивно впроваджуються у практику мікроорганізми – утилізатори різноманітних матеріалів та речовин, які забруднюють довкілля. Чимало мікроорганізмів використовують як антагоністів збудників захворювань людини і тварин. Запропоновані на їх основі пробіотики широко запроваджені у практику медицини. Певні види мікроорганізмів використовують у біотехнології важливих для людини речовин (антигенів,

інтерферонів, вітамінів та ін.), надаючи їм необхідних властивостей за допомогою генно-інженерних маніпуляцій. Накопичена органічна сполука має великий енергетичний потенціал, оскільки з нього утворюються сховища нафти, газу, вугілля та інших корисних копалин. Енергетика і в наш час здебільш визначає прогрес науки, техніки, а також благополуччя мешкаючи на Землі.

Мікроорганізми беруть активну участь у перетворенні речовин. Вони підвищують плодючість ґрунту. Так, **амоніфікатори** розкладають білкові речовини. Продукти їх життєдіяльності (аміак) окислюються нитрифікуючими бактеріями спочатку до азотистої, а потім до азотної кислоти. Солі азотної кислоти – нітрати – засвоюються вищими рослинами. Мікроорганізми **фіксують азот з повітря**, збагачують цим елементом ґрунт, що забезпечує підвищення врожайності сільськогосподарських культур.

Отже, **мікроорганізми** бувають корисними та шкідливими: деякі з них розкладають рештки рослин і тварин, очищують нашу Землю, інші після проникнення до живого організму, викликають хвороби, що причиняють велику шкоду людині, тваринам і рослинам. Мікроби являються не тільки причиною інфекцій, а й засобом їх лікування. Всі вакцини – біологічні препарати, що використовуються для профілактики захворювань, які складаються з мікробів або продуктів їх життєдіяльності. Не випадково засновник мікробіології Луї Пастер писав: „*Микробы – бесконечно малые существа, играющие в природе бесконечно большую роль*”.

### **Значення мікроорганізмів:**

**1)корисне:** а)кругообіг речовин у природі, б)родючість ґрунту,

в)утворення покладів корисних копалин, г)виробництво органічних кислот, спиртів, вітамінів, амінокислот, ферментних препаратів, антибіотиків та ін.,д) харчова й легка промисловість: дріжджі (вино, пиво, хліб), молочнокислі бактерії (кисломолочні продукти, сири, квашення, окислювання шкір);

2) *шкідливе* - а)збудники захворювань людей, тварин, рослин;  
б)псування харчових продуктів, руйнування різних матеріалів і товарів.

### **3. Будова бактеріальної клітини**

Мікроорганізми суттєво розрізняються за рівнем організації генетичного матеріалу, за наявністю та складом білоксинтезуючих ферментних систем, за будовою клітинної стінки й іншими властивостями. За цими ознаками всі відомі мікроскопічні істоти поділяються на три царства: еукаріот, прокаріот і царство вірусів.

Еукаріоти мають диференційоване ядро з ядерною мембраною, ядерцем та апаратом мітозу, у них, як правило, диплоїдний геном, рибосоми 80 S, розвинуті внутрішні мембранні структури у вигляді ендоплазматичної сітки, мітохондрій, лізосом, інші характерні ознаки. До еукаріот належать всі тваринні та рослинні організми на Землі.

Прокаріоти - це клітинні організми, у яких немає оформленого ядра, ядерний апарат організовано значно простіше, ніж у еукаріот, він є гаплоїдним, може вважатися попередником ядра, має назву нуклеоїд. Прокаріоти не мають апарату мітозу, їхня цитоплазма не містить мембранних структур типу мітохондрій, лізосом, ендоплазматичної сітки, але в клітинній стінці є пептидоглікан, який відсутній у еукаріот, наявні рибосоми 70 S. До патогенних прокаріот належать бактерії.

Незважаючи на такі кардинальні відмінності в структурі клітин різних систем, загальний план їх будови залишається подібним. Прокаріотний організм містить у собі майже всі клітинні елементи: оболонку, цитоплазму, ядерний апарат, включення.

Цитоплазма бактерійних клітин має рідку консистенцію, прозора, гомогенна, відмежовується від зовнішнього середовища цитоплазматичною мембраною. Вона є своєрідною колоїдною системою, що складається з різноманітних молекул білків, ліпідів, води, ДНК і РНК, вуглеводів, полісахаридів та інших сполук. В'язкість її у 800-8000 разів перевищує аналогічний показник води. Будова і консистенція цитоплазми залежить від

віку мікроба - гомогенна у молодих клітин вона поступово перетворюється на дрібнозернисту структуру в старих, набуваючи вигляду щільників. У ній з'являються вакуолі, волокнисті утворення, збільшується її густина, за консистенцією вона нагадує гель.

У процесі життєдіяльності мікроорганізмів у цитоплазмі з'являються морфологічно диференційовані частки, які називають включеннями. Вони бувають різними за своєю природою і виконують різноманітні функції.

Запасні речовини прокаріотів представлено полісахаридами, ліпідами, поліпептидами, поліфосфатами, сіркою. Як полісахариди відкладаються крохмаль, глікоген, гранульоза. У несприятливих умовах вони забезпечують клітину вуглецем та енергією.

Ліпіди можуть накопичуватись у вигляді гранул  $\beta$ -оксимасляної кислоти, їх можна побачити навіть при звичайній мікроскопії, забарвлюючи препарати суданом III або суданом чорним.

Широко розповсюджений тип поживних речовин - поліфосфати. Вони містяться у гранулах, які називають волютиновими, і використовуються клітинами як джерело фосфору. Крім того, вони мають макроергічні фосфатні зв'язки, отже, забезпечують потреби клітини в енергії. Зерна волютина називають ще метахроматичними включеннями, тому що вони забарвлюються в колір, невластивий основному барвнику. Наприклад, метиленова синька забарвлює їх у темно-фіолетовий колір, в той час як цитоплазму клітини - в голубий. Вперше включення такого типу було знайдено у *Spirillum volutans*, звідки вони й одержали таку назву. Наявність зерен волютину характерна для збудника дифтерії.

Аналогічну функцію забезпечення енергетичних потреб клітини можуть виконувати включення колоїдної сірки, а в деяких анаеробних мікроорганізмів вона виступає ще й донором електронів у біохімічних процесах.

Деколи у бактерій з'являються особливі утворення, які називають вакуолями. Їм відводять роль сховища різноманітних бактеріальних

ферментів, а також резервуара, де скупчуються непотрібні клітині продукти обміну.

Оболонка бактерій складається з цитоплазматичної мембрани, клітинної стінки і капсули. Елементарна мембрана здатна утворювати інвагінації, які називаються мезосомами.

## 2. Рухомість, розмноження, спорутворення.

За характером руху **рухливі бактерії** поділяють на **плаваючі і ковзні (плазують)**. Орган руху плаваючих бактерій – **джгутики**. Рухливість ковзних бактерій забезпечують хвилеподібні скорочення тіла.

За способом розташування джгутиків мікроорганізми поділяються на ряд груп:

- ✓ **Монотрихи** - бактерії, що містять джгутик на одному з полюсів клітини (холерний вібріон). Такі мікроорганізми найрухоміші серед інших: за 1 с вони здатні переміщуватись на віддаль, яка у 20 разів перевищує довжину їх тіла.
- ✓ **Лофотрихи** мають пучок джгутиків на одному з полюсів (псевдомонади, *Bacillus megaterium*).
- ✓ У **амфітрихів** джгутики або їх пучки розташовані на обох полюсах (спірили).
- ✓ **Перитрихи** мають джгутики, розміщені по всій поверхні тіла мікроба (протей, ешерихії, сальмонели), число їх може досягати 1000.

Виявити джгутики можна за допомогою прямих та непрямих методів. При непрямих методах спостерігають за рухом мікроорганізмів у темному полі мікроскопа, у “**висячій**” чи “**роздавленій**” краплях, за допомогою фазово-контрастної, аноптральної мікроскопії. За допомогою прямих методів джгутики забарвлюють барвниками, або солями металів, попередньо наносячи на них протраву для збільшення у розмірах, або досліджують на ультратонких зрізах під електронним мікроскопом.

Рух джгутиків забезпечується енергією трансмембранного потенціалу, яка генерується на цитоплазматичній мембрані. У більшості мікробів з

полярним розташуванням джгутиків вони обертаються зі швидкістю 3000 обертів за 1 хв.

Джгутики мають пристосувальне значення. Вони надають клітині змогу переміщуватись у рідкому середовищі в пошуках більш сприятливих умов існування. У відповідь на зовнішні подразнення (хімічні речовини, температура тощо) або спонтанно здатні змінювати характер свого обертання і напрям руху. Це називають таксисом. Відповідно до факторів, що його викликають, розрізняють хемотаксис, фототаксис, аеротаксис.

До поверхневих структур бактерійної клітини належать різноманітні придатки, які позначають терміном **пілі** (pilus - волос): стебельця, шипики тощо. Особливим типом таких утворень є ворсинки, **фібрії** (fimbria - торочка). Їх число може перевищувати 10000, довжина сягає до 2 мкм, а товщина - 3-25 нм. Як і джгутики, вони складаються з білкових субодиниць. Описані ворсинки двох класів. Загальні ворсинки (1-го класу) забезпечують адгезію (прикріплення) мікроба до субстрату, через них всередину клітини можуть проникати деякі метаболіти і навіть бактеріофаги. Ворсинки 2-го класу (статеві) беруть участь у передачі генетичної інформації від клітини до клітини при кон'югації.

### **3. Будова міцелію, розмноження, класифікація.**

#### Клітинна стінка бактерій

Клітинна стінка створює захисний шар, який врівноважує високий внутрішній осмотичний тиск бактерій (5-20 атмосфер). Таку міцність забезпечує речовина - **муреїн, пептидоглікан**. Він складається з особливих полімерних ланцюгів, у яких чергуються залишки N-ацетилмурамової кислоти і N-ацетилглюкозаміну, в свою чергу сполучених між собою -1,4-глікозидними зв'язками. Залишки мурамової кислоти з'єднуються пептидними зв'язками із тетрапептидами амінокислот: L- і D-аланіну, D-глютамінової та мезодіамінопімелінової кислот, L-лізину. Пептидними містками такі гетерополімерні ланцюги зв'язуються між собою, утворюючи гігантський муреїновий мішок.

Те, що до складу бактерій входять речовини, відсутні в тваринних і рослинних клітинах (N-ацетилмурамова кислота і N-ацетилглюкозамін), створює можливість цілеспрямованого знищення бактерій деякими антибіотиками (пеніциліни, цефалоспорини), оскільки клітинні стінки еукаріотів при цьому не пошкоджуються. Створена з муреїну структура виконує функцію опорного каркасу, надаючи форму мікробній клітині, крім того, з ним зв'язуються інші речовини.

За особливостями будови мікробного муреїнового каркасу і вмістом деяких речовин у клітинній стінці можна відрізнити так звані **грампозитивні бактерії від грамнегативних**. Поділ їх на ці дві групи було запропоновано у **1884 р. Христіаном Грамом**, який звернув увагу на особливості фарбування мікробів.

У **грампозитивних бактерій** муреїновий шар складає 30-70 % маси клітинної стінки, утворюючи до 40 шарів. Замість мезодіамінопімелінової кислоти в ньому міститься LL-діамінопімелінова кислота або лізин. Суттєвою особливістю є наявність особливих тейхоевих кислот.

Під електронним мікроскопом таку клітинну стінку видно як губчасту структуру з порами діаметром 1-6 нм.

**Грамнегативні бактеріальні клітини** мають значно складнішу будову стінки. До її складу входить більше розмаїття біологічних молекул. Муреїновий шар у них одношаровий, складає до 10 % маси сітки. Він містить мезодіамінопімелінову кислоту, немає лізину, а міжпептидні містки відсутні. Тейхоевих кислот у стінці також немає. Зовні до муреїнового шару прилягає шар ліпопротеїну, який переходить у зовнішню мембрану, що складається з білків, фосфоліпідів і ліпополісахаридів, типових для елементарних мембран. Над мембраною, інтегруючись із нею, розміщується ліпополісахарид.

Він має внутрішнє й зовнішнє полісахаридне ядро, пов'язане з ліпідом А. За зовнішніми специфічними боковими ланцюгами ліпополісахаридів збудники можна диференціювати один від іншого, що використовується при ідентифікації. Ліпід А забезпечує токсичні властивості мікробної клітини,

викликаючи в людини підвищення температури, пронос та інші прояви хвороби.

### **Відмінності грампозитивних і грамнегативних клітин.**

Клітинна стінка крім опорної та захисної виконує ще ряд важливих функцій. Зокрема, вмонтовані у фосфоліпідний шар трансмембранні білки (порини) - це заповнені водою канали, через які проходять низькомолекулярні сполуки. Периплазматичний простір між цитоплазматичною мембраною та клітинною стінкою у грамнегативних бактерій виступає сховищем для різноманітних ферментів - деполімераз, протеїназ, нуклеаз, рестрикційних ферментів, відіграє роль у забезпеченні осморегуляції.

Під впливом різноманітних речовин клітинна стінка може бути знищена. Так, при дії лізоциму на суспензії грампозитивних мікрококів виникає їх швидкий лізис і просвітління середовища. Аналогічний ефект спричиняє пеніцилін. Лізоцим розриває в муреїні глікозидні зв'язки, а пеніцилін попереджує утворення пептидоглікану, що супроводжується руйнуванням клітинної стінки. При цьому утворюються чутливі до осмотичних умов округлі клітини - протопласти, у яких повністю втрачена клітинна стінка. При дії вказаних препаратів на грамнегативні бактерії формуються клітини, які зберігають рештки клітинної стінки. Їх називають **сферопластами**.

Протопласти і сферопласти належать до субклітинних форм бактерій. Вони мають круглу форму, високочутливі до осмотичних умов середовища, утворюють спори, якщо був ініційований процес споруляції, але не мають здатності до розмноження. Сферопласти, на відміну від протопластів, здатні адсорбувати на своїй поверхні бактеріофаги і відновлюватись у вихідні форми при відміні дії чинників, які викликали їх утворення.

В організмі людини і тварин при антибіотикотерапії (пеніцилін, бацитрацин, новобіоцин) створюються умови для порушення синтезу пептидоглікану, а бактерійні клітини, втрачаючи свою клітинну стінку, перетворюються в L-форми. Це ж клітини до 50 мкм у діаметрі, які зберігають тенденцію до перетворення у вихідні форми, продукують токсини,

гіалуронідазу. Описані такі форми бактерій у збудників гонореї, туберкульозу, черевного тифу, бруцельозу та інших. Вони здатні викликати у людини захворювання, які супроводжуються тривалим перебігом. Утворення таких форм мікроорганізмів вважають за спосіб переживання несприятливих факторів зовнішнього середовища.

Слід відмітити, що в природі існують мікроорганізми, у яких немає клітинної стінки. Вони називаються **мікоплазмами** і мають виражені патогенні властивості, викликаючи різноманітні захворювання дихальної, серцево-судинної, сечовидільної систем.

**Клітинну стінку мікробів** можна *зруйнувати лугом, ультразвуком, механічним методом*. Виявити її можна різними способами: спостерігаючи в електронному, фазовоконтрастному та аноптральному мікроскопах, при мікроскопії автолізованих бактерій, застосовуючи спеціальні методи забарвлення (сафраніном, синьою вікторією).

У лабораторних умовах легко дослідити наявність клітинної стінки, використовуючи явище плазмолізу. При цьому клітину занурюють у гіпертонічний розчин хлориду натрію або 0,2М розчин нітрату калію. Вода за градієнтом концентрації виходить із клітини назовні, цитоплазматична мембрана разом із цитоплазмою зморщуються, відшаровуючись від стінки, яка зберігає форму бактеріальної клітини і стає видимою під мікроскопом.

### **3. Віруси, їх розміри, властивості, значення у житті людини.**

**Віруси** – це форми життя, що належать до окремого царства Vira. Наука про віруси називають **вірусологією** – одна з наймолодших наук.

Тепер віруси визначають як самостійні самопродукуючі неклітинні структури, здатні функціонувати в сприйнятливих для них клітинах тварин, рослин, бактерій.

Цілий **ряд ознак відрізняє** віруси від прокаріотів і еукаріотів:

- відсутність клітинної структури – це неклітинні форми існування;
- наявність у вірусів тільки однієї з двох нуклеїнових кислот, у той час як у всіх інших мікроорганізмів є ДНК і РНК;

- відсутність власних білоксинтезувальних систем. Синтез вірусних білків здійснюється білоксинтезувальним апаратом клітини-хазяїна, в якій вірус паразитує;
- рівень паразитизму у вірусів, на відміну від внутрішньоклітинного паразитизму бактерій і найпростіших, визначається як генетичний паразитизм;
- віруси не ростуть, і розмноження в них відбувається шляхом диз'юнктивної репродукції.

У клітині окремо синтезуються білки і нуклеїнові кислоти вірусів, а потім відбувається їх складання у вірусні частинки. У той же час віруси, безумовно, мають основні властивості всіх інших форм існування - здатність **розмножуватися, спадковість, мінливість, пристосовуваність** до умов зовнішнього середовища; вони займають певну екологічну нішу, на них поширюються закони еволюції органічного світу на землі.

**Морфологію й ультраструктуру вірусів** вивчають за допомогою

електронного мікроскопа, тому що їх розміри малі порівняно з товщиною оболонки в бактерій. Розміри вірусів визначають методом ультрафільтрації через фільтри з відомим діаметром пор, а також методом **ультрацентрифугування**. Одним з найдрібніших вірусів є вірус поліомієліту, що має розміри 20 - 24нм, а найбільші – віруси віспи близько 350нм.

Окрема вірусна частинка одержала назву **віріон**. Він складається з однієї молекули нуклеїнової кислоти (ДНК або РНК) та білкового футляра, що її оточує – **капсида**. Разом вони формують **нуклеокапсид**. Капсиди утворені з білкових субодиниць (поліпептидів), які називаються **капсомерами**(мал. 18). Їх кількість стабільна для кожного виду вірусів і використовується як таксономічна ознака. Віруси з таким типом будови називають **простими**.

До них належать найдрібніші з патогенних вірусів людини: поліовіруси, аденовіруси, паповавіруси.

Проте більшість вірусів має ще одну оболонку – **суперкапсидну**, яка містить **ліпіди**. Вона пронизана віруссPECIFIC білками –

глікопротеїдами, які на поверхні оболонки утворюють особливі структури, що називаються шипами. Такі віруси називають складними або оболонковими (мал. 19). Структурною одиницею суперкапсидної оболонки є пепломер. До них належать віруси сказу, герпесу, грипу, енцефалітів, імунодефіциту людини та ін.

**Капсид і суперкапсид** захищають вібріони від фізичних і хімічних впливів і насамперед від ферментів нуклеаз, а також обумовлюють адсорбцію певними клітинами, визначають антигенні та імуногенні властивості вібріонів.

Віріони характеризуються поняттям **симетрії**. Тип симетрії залежить від способу укладки нуклеїнової кислоти і, відповідно, розташування капсомерів навколо неї. Виділяють такі типи симетрії:

- 1) ізометричний (або кубічний),
- 2) спіральний,
- 3) змішаний.

**Кубічний** тип характеризується тим, що капсомери утворюють багатогранник (найчастіше ікосаедр – 20-гранник).

Усі відомі ДНК-геномні віруси мають складні капсиди (аденовіруси, герпесвіруси, парвовіруси), а також деякі віруси, що містять РНК – пікорнавіруси, тогавіруси.

У віріоні зі **спіральною симетрією** молекула нуклеїнової кислоти закручена разом із капсомерами в тугу спіраль. Такий тип симетрії мають віруси мозаїчної хвороби тютюну, грипу, кору, епідемічного паротиту та ін.

**Комбінований** тип симетрії спостерігається у деяких бактеріофагів (мал. 22). При цьому головка бактеріофага має кубічний тип симетрії, а нуклеопротеїд, розміщений у хвості, укладається спіралью.

**Форма вірусів** може бути найрізноманітнішою:

- паличкоподібна (віруси мозаїчної хвороби тютюну),
- кулеподібна (віруси сказу),
- сферична (віруси грипу, папіломи),
- кубоїдальна (віруси натуральної віспи), головчаста або сперматозоїдна

## Тема 2: ОБМІН РЕЧОВИН У МІКРООРГАНІЗМІВ

План:

### 1. Механізм транспорту поживних речовин до клітини

Для здійснення процесів росту й розмноження бактерій, тобто життєдіяльності, необхідні поживні речовини з навколишнього середовища. Надходження поживних речовин у бактеріальну клітину відбувається без енергетичних витрат, за рахунок **пасивної дифузії** (за градієнтом концентрації) або **полегшеної дифузії** (за допомогою ферментоподібних білків — пермеаз). Більшість поживних речовин транспортується в клітину активним шляхом, за допомогою специфічних **пермеаз**, локалізованих у цитоплазматичній мембрані. Цей процес відбувається проти градієнта концентрації, причому кожна пермеаза переносить у клітину тільки певну речовину, процес транспорту специфічний. У процесі активного транспорту може відбуватися хімічна модифікація речовин, наприклад, фосфорування вуглеводів.

Необхідна обставина — сприйнятлива форма поживних речовин, у якій вони можуть засвоюватись мікроорганізмом.

Мікроорганізмам властивий **голофітний** тип живлення. 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.

Таким чином, розрізняють такі типи транспорту:

- **активний транспорт** — коли з середовища із низькою концентрацією поживних речовин у клітину поступають харчові речовини за допомогою пермеаз і енергії АТФ.
- **полегшена дифузія** — коли із середовища з високою концентрацією речовини транспортуються за допомогою пермеаз без затрат енергії.

- **пасивна дифузія** – коли із середовища речовини рухаються з зони високої концентрації в зону низької концентрації в клітину за градієнтом концентрації або електростатичного потенціалу.

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 називається тургор і коливається у великих діапазонах 1,5 МПа. Тургор забезпечує транспорт води у клітину. Цитоплазматична мембрана 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 варіння 50% сахарозу. В такій концентрації вони виявляють бактеріостатичну дію, тобто бактерії не розмножуються але не гинуть і бактерицидну дію, коли настає загибель бактерій.

**3-ий стан** – **плазмоліс** – бактеріальна клітина потрапляє в гіпотонічний розчин, наприклад, це відбувається коли клітина потрапляє в дистильовану воду.

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 галофіли можуть розмножуватися і при 1-2%, і 10-12%.

Таким чином, транспортні системи виконують **дві важливі функції** в житті клітини:

- підтримують на високому рівні концентрацію поживних речовин всередині клітини;
- регулюють внутрішньоклітинний осмотичний тиск.

### **Тема 3: ЕКОЛОГІЯ МІКРООРГАНІЗМІВ. БІОСФЕРА, РОЛЬ МІКРООРГАНІЗМІВ У КРУГООБІГУ РЕЧОВИН**

План:

1. Біосфера, роль мікроорганізмів у кругообігу речовин
2. Мікрофлора повітря
3. Мікрофлора води
4. Мікрофлора ґрунту
5. Мікрофлора харчових продуктів

#### **1. Біосфера, роль мікроорганізмів у кругообігу речовин**

Поняття «Біосфера» (від грецького біос - життя) запропонував 1875 року австрійський учений Едуард Зюсс. Вчення про біосферу створив видатний український учений В.І. Вернадський.

На його думку, біосфера не є окремою єдиною оболонкою Землі, це лише частина її геологічних оболонок, населених живими організмами. Живі організми поширені у верхніх шарах літосфери, нижніх атмосфери і по всій глибині гідросфери. У глиб літосфери живі організми можуть проникати на відносно незначні відстані (наприклад, на глибині 2-4 км переважно в нафтоносних пластах можуть мешкати лише деякі групи бактерій). Проникнення живих істот у глиб літосфери обмежене високою температурою (понад +100° С) гірських порід і підземних вод на глибинах 1,5—15 км. Поширення організмів в атмосфері (переважно спор і цист мікроорганізмів) обмежене озоновим екраном, оскільки вище нього майже все живе гине під дією космічного випромінювання.

Тож найбільшу концентрацію живих організмів спостерігають там, де умови їхнього існування найсприятливіші: на межі окремих геологічних оболонок Землі: літосфери і атмосфери, атмосфери і гідросфери, літосфери і гідросфери.

Отже, біосфера - це сукупність усіх біогеоценозів Землі, єдина глобальна екосистема вищого порядку.

Екологія (від грецького *Oikos*-будинки, місце існування) мікроорганізмів вивчає взаємини мікроорганізмів або їх співтовариств між собою і навколишнім середовищем. Мікроорганізмів природі поширені повсюдно. Вони населяють ґрунт, воду, повітря, рослини, організми тварин і людини.

Поняття екосистеми було введено в наукову літературу англійським ботаніком О. Тенслі у 1935 р. За О. Тенслі, екосистема— це «сукупність комплексів організмів із комплексом фізичних факторів, що їх оточують, тобто факторів місця проживання в широкому розумінні».

К. Віллі (1974) вважає, що екосистема — це природна одиниця, що складається з живих і неживих елементів: неживої частини (абіотичних речовин), продуцентів, консументів і редуцентів (біотичних факторів).

Продуцентами в екосистемі є автотрофні організми (вищі рослини, деякі бактерії), що синтезують із неорганічних сполук органічні речовини з використанням сонячної енергії, та хемотрофи (водневі, нітрифікуючі, сіркобактерії, залізобактерії, метанокислюючі тощо), які використовують вивільнену енергію при окисленні аміаку, сірководню, сірки, азотистої і азотної кислот, сполук заліза і марганцю.

Консументи — організми, які живляться органічними речовинами, трансформуючи їх в інші форми. Це тварини, частини мікроорганізмів, паразитичні та комахоїдні рослини.

Редуценти — організми, що живляться мертвими органічними сполуками. До цієї групи належать, головним чином, бактерії і гриби, які перетворюють складні органічні речовини в неорганічні.

Організми в екосистемі зв'язані з абіотичним середовищем тісними матеріально-енергетичними зв'язками. Так, рослини можуть існувати при наявності необхідної кількості вуглекислого газу, води, кисню, мінеральних солей. Гетеротрофні організми живляться автотрофами, крім того, для них необхідні кисень і вода.

Отже, в природі постійно відбувається біологічний кругообіг речовин, завдяки якому організми, в тому числі мікроби, утворюють знеорганічним середовищем екосистему, в якій потік речовин і енергії замикається у відповідний збалансований цикл.

## **2. Мікрофлора повітря**

Мікрофлора- сукупність мікроорганізмів, що містяться в певному більш-менш однорідному середовищі (грунт, повітря, організм людини, певні харчові продукти тощо). До складу мікрофлори можуть входити різні групи мікроорганізмів – бактерії, мікроскопічні гриби, актиноміцети, мікроскопічні водорості, найпростіші.

Мікрофлора атмосфери – повітря

Вперше мікроорганізми в повітрі були виявлені Л. Пастером ще в другій половині XIX ст.

Дефіцит вологи та поживних речовин, сонячна радіація перешкоджають розмноженню мікроорганізмів в атмосферному повітрі. Мікроби потрапляють до повітря з поверхні ґрунту та рослин, з відходами виробництва, із тваринних організмів. Мікрофлора атмосферного повітря є вторинною та досить бідною за видовим складом. Вона залежить від інтенсивності сонячної радіації, вітру, опадів, пори року.

При чханні, кашлі, розмові із верхніх дихальних шляхів людини в повітря викидається безліч краплинок слизу з епітеліальними клітинами та мікроорганізмами. Зважені в повітрі краплинки утворюють стійкий мікробний аерозоль, дрібнодисперсні фракції якого здатні проникати навіть в середні та нижні відділи респіраторного тракту людини.

Мікробний аерозоль може стати причиною розвитку алергічних захворювань, особливо за наявності в повітрі цвільових грибів та актиноміцетів.

Найчастіше в атмосферному повітрі знаходять актиноміцети, сарцини, мікрококи, бацили, гриби. Кількість мікроорганізмів у робочих і житлових приміщеннях тісно пов'язана з санітарно-гігієнічним режимом. При скупченні

людей, поганій вентиляції, неправильному прибиранні кількість бактерій у повітрі зростає. В закритих приміщеннях у повітряний простір мікрофлора потрапляє, в основному, з поверхні шкіри і верхніх дихальних шляхів людини.

Патогенні мікроорганізми потрапляють у повітря від хворих людей або бактеріоносіїв при чханні, кашлі, розмові. Розсіювання бактерій і вірусів найбільш інтенсивно відбувається при чханні. Навіть короткого перебування збудників у повітрі досить для того, щоб передати їх від хворої до здорової людини. Повітряно-краплинним способом передаються дифтерія, коклюш, скарлатина, менінгіт, ангіна, туберкульоз, грип, кір, аденовірусні інфекції тощо.

Оцінку чистоти повітря закритих приміщень проводять на основі визначення загальної кількості мікробів в 1м<sup>3</sup> і наявності санітарно-показових бактерій - гемолітичних стрептококів і золотистих стафілококів.

Особливо важливий контроль за мікробним забрудненням повітря у хірургічних, акушерських та дитячих стаціонарах, де виникнення госпітальних інфекцій найбільш небезпечне. На жаль, державний стандарт для оцінки мікробного обсіменіння повітря лікарняних закладів ще не розроблено. Для основних приміщень хірургічних відділень і пологових будинків запропоновано тимчасове положення про нормування мікробного забруднення повітряного середовища. Згідно з цим положенням, загальна кількість бактерій в операційній не повинна перевищувати 500 в 1м<sup>3</sup>, а після операції - 1000. Гемолітичні стрептококи і золотисті стафілококи не повинні виявлятися в 250 л повітря.

Для знезараження повітря лікарняних закладів використовують ультрафіолетове і кварцове опромінювання, аерозолі дезінфікуючих розчинів.

### **3. Мікрофлора води**

Вода морів, океанів, річок і озер, як і ґрунт, є природним середовищем для існування багатьох видів бактерій, грибів, найпростіших а також мікроскопічних водоростей. У ґрунтових водах містяться поодинокі мікроорганізми. Основний фактор, який визначає кількість мікробів у воді—

наявність у ній необхідних живильних субстратів. Чим більше вода забруднена органічними речовинами, чим більше в неї потрапляє відходів і нечистот, тим більше в ній бактерій. Отже, вода рік, які протікають через населені пункти і вбирають масу стоків і каналізаційних вод, містить величезну кількість мікроорганізмів.

Мікрофлора води поділяється на власну (автохтонну) і випадкову (заносну). До постійних бактерій належать актиноміцети, мікрококи, псевдомонади, спірохети, непатогенні вібріони. Із морської води прибережних зон систематично висіваються вібріони, які спричиняють у людей гострі гастроентерити від вживання малосольної морської риби, креветок, мідій.

При забрудненні водоймищ стічними водами виявляють багато кишкових паличок, ентерококів, клостридій, спірил, вібріонів, ентеровірусів і ротавірусів. Анаеробні бактерії у воді зустрічаються рідко. Інколи в неї заносяться і певний час зберігаються хвороботворні мікроорганізми. Так, спори сибіркових бацил зберігаються у воді роками, збудники тифів, ентеровіруси, вірус гепатиту А, лептоспіри - кілька місяців, а збудники дизентерії, холери, бруцельозу - ще менше (дні, тижні). Отже, вода може стати могутнім фактором передачі багатьох інфекційних хвороб.

Санітарно-показовим мікробом для води є кишкова паличка (*Escherichia coli*).

Доброякісна питна вода повинна відповідати певним вимогам державного стандарту. Наказом МОЗ України від 23.12.1996 р. затверджено Державні санітарні правила і норми “Вода питна. Гігієнічні вимоги до якості води централізованого господарсько-питного водопостачання”. Вимоги їх обов’язкові для всіх органів, установ, організацій та закладів, посадових осіб і громадян, причетних до забезпечення водою населення України.

Інтенсивність фекального забруднення води визначається титром кишкової палички (колі-титр) або колі індексом.

Колі-титир – найменша кількість досліджуваного матеріалу, в якому виявлена одна кишкова паличка, не менше 300 см<sup>3</sup>

Колі-індекс – кількість кишкових паличок виявлених в 1дм<sup>3</sup>, не більше 3.

#### **4. Мікрофлора ґрунту**

Земля є найбільшим і найважливішим середовищем для проживання мікроорганізмів. Перші бактерії, як і все живе, з'явилися у воді, однак у пізніші геологічні періоди, коли на поверхні земної кори утворився ґрунт, саме він став основним вмістилищем мікробного світу й основною ареною його життєдіяльності.

Кількість мікробів в 1 г ґрунту може бути дуже велика: від 200 млн до 10 млрд. Удобрювані орні землі населені мікроорганізмами найбільш густо. Ґрунти лісів, сфагнових боліт, піски пустинь і кам'янисті ґрунти містять мало бактерій. Самий поверхневий шар землі (кірочка товщиною 2-3 мм) містить мало мікробів, оскільки висихання і сонячні промені згубно впливають на них. Основна маса їх знаходиться на глибині 10 - 20см. На глибині 1 - 2м непорушеної землі бактерії майже не зустрічаються.

Мікрофлора ґрунту дуже різноманітна і включає кілька сотень видів. Тут зустрічаються нітрифікуючі, денітрифікуючі, азотофіксуючі бактерії, численні сірко-, залізобактерії, гриби, найпростіші, віруси. Вони відіграють колосальну роль у кругообігу речовин у природі, підвищують урожайність полів, забезпечують життя на Землі. Мікроорганізми ґрунту беруть активну участь у всіх процесах трансформації речовин і енергії: здійснюють синтез біомаси, біологічну фіксацію азоту, бродіння, гниття, денітрифікацію, кругообіг сірки, заліза, фосфору та інших елементів.

Із виділеннями людей і тварин у ґрунт можуть потрапляти і зберігатися протягом деякого часу збудники правця, газової гангрени, сибірки, черевного тифу, дизентерії, холери, окремі віруси. Для бацил ботулізму й деяких видів грибів земля є природним середовищем їх проживання. Особливого епідеміологічного значення набуває мікрофлора ґрунту під час воєн, коли при масових пораненнях значно зростає небезпека забруднення ран землею, яка містить спори анаеробних бактерій, у результаті чого можуть виникати такі тяжкі ранові інфекції, як правець і газова гангрена.

Санітарно-показовими бактеріями ґрунту є кишкова паличка, ентерокок, *Clostridium perfringens* і термофільні мікроорганізми. За наявності перших трьох видів судять про ступінь фекального забруднення ґрунту. Точніша оцінка проводиться при визначенні колі-індексу - кількість бактерій групи кишкової палички в 1 г ґрунту. Визначають також загальне мікробне число (ЗМЧ) - кількість сапрофітних бактерій в 1 г землі.

Ґрунт вважають чистим, якщо його колі-індекс не перевищує 1000, а кількість термофільних бактерій знаходиться в межах 100-1000. За епідемічними показниками ґрунт ще досліджують на наявність патогенних бактерій (сальмонел, шигел, паличок правця, газової гангрені, ботулізму, сибірки) та ентеровірусів.

## Тема 4: КУЛЬТИВУВАННЯ І РІСТ МІКРООГАНІЗМІВ

План:

### 1. Способи 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,  $\text{Fe}_2^+$ , 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 облигатних анаеробів існує складна техніка культивування в атмосфері інертного газу, з постійною перевіркою на відсутність кисню

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 самостійно 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.

## **Тема 5: НАЙВАЖЛИВІШІ БІОХІМІЧНІ ПРОЦЕСИ, ВИКЛИКАНІ МІКРООРГАНІЗМАМИ. ЇХ ВИКОРИСТАННЯ В ХАРЧОВІЙ ПРОМИСЛОВOSTІ**

План:

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

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 пірвіноградна кислота (піруват).

В анаеробних умовах пірвіноградна 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 окисленні 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 пірвіноградної 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*, під *Sacharo-mycetes*. 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* 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) (мал.34) - 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 діацетила. 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 крохмалю - 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. acidipropionis*. 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 B12. 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 - облігатні (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 6: ОКИСЛЕННЯ ЕТИЛОВОГО СПИРТУ ОЦТОВОКИСЛИМИ БАКТЕРІЯМИ.

### План

1. Окислення етилового спирту оцтовокислими бактеріями
2. Розкладання жирів мікроорганізмами, характеристика процесу і збудників
3. Амоніфікація
4. Денітрифікація

### 1. Окислення етилового спирту оцтовокислими бактеріями

Окислювальні процеси відносяться до **аеробних**.

***Аеробні процеси** – це окислювальні процеси, при яких органічні речовини окислюються киснем повітря до кінцевих продуктів розпаду (води та вуглекислого газу) або до більш простих сполук.*

Якщо повного окислення речовин до кінцевих продуктів розпаду (води та вуглекислого газу) не відбувається, то такі аеробні процеси називають **умовно-окислювальними бродіннями**. Таку назву отримали ці процеси тому, що продукти окислювальних бродінь дуже подібні до продуктів, які утворюються при справжніх (анаеробних) бродіннях.

Типовими прикладами окислювальних бродінь, що мають широке промислове використання, є **оцтовокисле і лимоннокисле бродіння**.

**Лимоннокисле.** *Лимоннокислим бродінням називається процес окиснення цукру до лимонної кислоти в результаті життєдіяльності плісневих грибів.*

Кінцевий результат бродіння можна подати таким сумарним рівнянням:



I



I



Лимонна кислота

Хімізм лимоннокислого бродіння до цього часу остаточно не вивчений. Багато дослідників вважає, що до утворення піровиноградної кислоти цей процес іде так само, як і інші бродіння. В якості збудника лимоннокислого бродіння найчастіше використовують гриб **Aspergillus niger**. Лимонна кислота широко використовується в кондитерській промисловості, у виробництві безалкогольних напоїв, а також в медицині й кулінарії. Утворення органічних кислот є проміжна (або друга) стадія при виготовленні лимонної кислоти. При виробництві лимонної кислоти живильний субстрат (20%-ний розчин цукру з додатками мінеральних солей) розливають тонким шаром (2,5 см) у кювети. Живильний субстрат засівають спорами гриба. Гриб вирощують впродовж 2-3 діб при температурі 30°C і високій відносній вологості повітря. Коли субстрат покривається грибною плівкою з конідіями, з-під плівки випускають живильний субстрат і знизу для бродіння підливають чистий 20%-ний розчин цукру. Починається друга стадія процесу - власне бродіння, яке продовжується 3-4 доби. Після ферментації в розчині є лимонна, глюконова та щавлева кислоти. Лимонну кислоту виділяють із суміші кислот у вигляді лимоннокислого кальцію.

**Оцтовокислі бактерії**—збудники псування харчових продуктів.

Оцтовокисле бродіння – це процес окиснення етилового спирту до оцтової кислоти в результаті життєдіяльності мікроорганізмів.

Хімізм цього бродіння відносно простий. Окиснення етилового спирту оцтовокислими бактеріями протікає у дві стадії. На першій оцтовокислі бактерії, викор кисень повітря, окиснюють етиловий спирт до **оцтового альдегіду**. На другій оцтовий альдегід окиснюється до **оцтової кислоти**.

**Оцтовокислі бактерії** – це *нерухомі, доволі великі палички. Спор вони не утворюють, по Граму забарвлюються достатньо. Відносяться до строгих аеробів, тобто можуть розвиватися тільки при наявності кисню повітря. При розмноженні клітини не відходять одна від одної, тому утворюються цілі ланцюги оцтовокислих бактерій. Сполучення клітин у вигляді довгих ланцюгів зумовлює утворення плівок на продуктах, де*

розвиваються оцтові бактерії. Наваж. представниками оцтовокислих бактерій є такі види: *Bact. Pasteurianum* - короткі палички, які розвиваються в середовищі з концентрацією етилового спирту 8-9% і накопичують 6-8% оцтової кислоти. *Bact. acetii* накопичує тільки 6% оцтової кислоти. *Bact. Schutzenbahii* можуть утворювати до 12% оцтової кислоти. *Саме цей вид оцтовокислих бактерій використовують для промислового виробництва оцту.*

*Bact. xylinum* утворює на поверхні субстрату масивну хрящоподібну плівку. Цей вид бактерій в побуті неправильно називають **чайним грибом** і використовують для отримання в домашніх умовах кислуватого напою із чаю. Утворює незначну кількість оцтової кислоти (не більше 2 %), зате ферментує не тільки етиловий спирт, але й цукор. Оптимальна температура для розвитку всіх оцтовокислих бактерій 30-35°C, при температурі 65°C вони гинуть. Деякі види оцтовокислих бактерій здатні синтезувати вітаміни В. Значення оцтовокислого бродіння. Оцтовокислі бактерії використовують для отримання столового оцту з етилового спирту. Треба пам'ятати також про те, що спонтанний розвиток оцтовокислих бактерій може завдавати також великої шкоди, спричиняючи прокисання вина і пива. Для того, щоб попередити прокисання цих напоїв, необхідно зберігати їх у повністю заповнених бочках. Тоді у бочках не буде кисню, а це означає, що не буде умов для розвитку оцтовокислих бактерій. Якщо ж розвиток оцтовокислих бактерій виявлено не одразу, а лише тоді, коли напої уже прокисли, то такі напої можна використати тільки для виробництва оцту.

## **2. Розкладання жирів мікроорганізмами, характеристика процесу і збудників**

Головна роль у розкладанні органічних сполук належить мікроорганізмам. Використовуючи для своїх життєвих процесів хімічну енергію складних, багатих на енергію органічних сполук (білків, жирів, вуглеводів), мікроорганізми розкладають їх до найпростіших сполук. Хоча при цьому утворюється нова речовина (тіло мікроорганізму), значна частина

речовини, яка розклалася, мінералізується. Гриби ґрунту є гетеротрофами, які вимагають наявності у ґрунті органічної речовини. Роль грибів зводиться до того, що вони за допомогою свого ферментативного апарату розкладають жири, вуглеводи, лігніни, білки та інші органічні сполуки ґрунту.

Гриби досить інтенсивно розкладають свіжу лісову підстилку і цим самим сприяють процесу ґрунтоутворення. Серед усієї маси мікроорганізмів, що приймають участь у кругообігу вуглецю, найбільшу роль відіграють оліготрофи, дріжджі, стрептоміцети (актиноміцети), мікроміцети (гриби), що розкладають целюлозу і пектинові речовини, жири, вуглеводи і вуглеводні.

### **3. Амоніфікація**

**Амоніфікація** – це розкладання редуцентами білків рослинного походження як мертвих, так і живих.

Сапрофіти проводять амоніфікацію мертвих органічних сполук. Це бактерії і мікроміцетові гриби. Назва процесу походить від аміаку  $\text{NH}_3$ , тому що в процесі амоніфікації утворюється аміак як кінцевий продукт гідролізу, мінералізації білків в аеробних і анаеробних умовах під дією протеолітичних ферментів гнильних бактерій. У процесі гниття йде очищення Землі від трупів тварин і залишків рослин.

Гнильні бактерії виконують санітарну роль. В аеробних умовах кінцеві продукти гниття –  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ , мінеральні солі. В анаеробних умовах поруч з  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{S}$  утворюються скатол, індол, крезол, меркаптани, леткі жирні кислоти, діаміни – тобто отруйні речовини. Серед гнильних бактерій є патогенні (*Bac.cereus*) і умовно патогенні *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*.

**Гнильні бактерії** – це організми, які мають протеолітичну активність.

Вони за своєю природою є амоніфікаторами, які мають оптимум температурного розвитку в межах 30 – 40 °C. Тобто їх відносять до мезофілів. Вони є хемоорганогетеротрофами і за морфологією є паличкоподібними.

#### 4. Денітрифікація

**Денітрифікація**(дісиміляційна денітрифікація) — клас мікробіологічних процесів відновлення нітратів до нітритів і далі до газоподібних оксидів і молекулярного азоту. В результаті цих процесів азот повертається до атмосфери і стає недоступним для більшості організмів.

Особливо виділяють асиміляційну денітрифікацію, що приводить до синтезу азотвмісних клітинних компонентів і властива всім рослинам і мікроорганізмам, здатним рости на середовищах з нітратами.

Дисиміляційна денітрифікація є процесом анаеробного (безкисневого) дихання, тобто використання нітратів і продуктів їх часткового відновлення замість кисню для окислення речовин (у різних мікроорганізмів як органічних, так і мінеральних) в ході метаболізму з виділенням енергії. Тому денітрифікація — процес анаеробний і пригнічується молекулярним киснем. Енергетична ефективність процесу при відновленні нітратів до молекулярного азоту становить близько 70 % від дихання аероба з використанням кисню.

Ферменти, що використовуються для денітрифікації, називаються нітратредуктазами.

**Перший етап** (перехід **нітратів в нітрити**) здатні здійснювати як прокаріоти, так і еукаріоти (водорості, гриби, дріжджі). Проводити процес до кінця мають можливість лише прокаріоти, причому всі вони факультативні анаероби, що за наявності кисню переключаються на аеробне дихання. Багато денітрифікаторів разом з тим мають здатність до фіксації азоту (наприклад, *Azospirillum lipoferum*). Денітрифікація, локалізована в ґрунті, дає до 70-80 % виділення  $N_2O$  (закис азоту, парниковий газ) в атмосферу.

## **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 сульфітрeredуючі клостридії;
- патогенні мікроорганізми, в тому числі сальмонели;
- мікроорганізми псування, до яких належать плісневі 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, сульфітредукуючі клостридії та протеси 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.

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.

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 протея більш часта.

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

Група протея 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 см<sup>3</sup> харчові продукти небезпечні для вживання і можуть служити причиною харчового отруєння внаслідок виділення з загиблих клітин протея ендотоксину з ентеротропною дією і гемолізу ну.

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 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.

На практиці виділяють поточну та заключну дезінфекцію.

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 см<sup>2</sup>; 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.