

ТЕМА №1.ВСТУП**План**

1. Предмет і завдання мікробіології, як науки.
2. Історія мікробіології.
3. Методи дослідження мікроорганізмів. Оптичний та електронний мікроскопи.
4. Роль мікроорганізмів у природі та виробництві.
- 5.

1.1 Предмет та завдання мікробіології, як науки

Мікробіологія- це наука про найдрібніші і найпоширеніші, невидимі для неозброєного ока, живі організми. Різноманітні представники світу мікробів, що оточують нас належать до різних таксонів. Серед них вирізняють бактерії, дріжджі, міцеліальні гриби, віруси та фаги.

Мікробіологія (грецькою *micro* –малий, *bios* – життя, *logos* – вчення) вивчає морфологію (будову), систематику, фізіологію (функції мікроорганізмів) і біохімію, генетику, екологію мікроорганізмів, їхню роль і значення в кругообігу речовин, патології людини, тварин і рослин, досліджує загальні умови їхньої діяльності і способи спрямування цієї діяльності на користь людині.

Мікроорганізми знаходяться в усіх кліматичних зонах, знаходяться на всіх предметах та продуктах, живуть в організмі людини тварин та риб, густо заселяючи травний тракт, слизові оболонки, зовнішні покриви (шкіру, шерсть, луски). Мікроорганізми є найважливішим ланцюгом в коловороті речовин в природі. Вони розкладають рештки відмерлих тварин та рослин, виконують роль санітарів планети, з їх життєдіяльністю пов'язані процеси утворення корисних копалин (нафти, деяких руд, метали, кам'яного вугілля та ін..) родючість ґрунту, самоочищення водойм).

Мікроорганізми використовують в багатьох галузях промисловості (харчовій, легкій, медичній, мікробіологічній) та сільському господарстві, де за їх допомоги проводять спеціальні процеси.

1.2 Історія мікробіології

Мікробіологія відносно молода наука, її історія нараховує близько 300 років. В історії мікробіології виділяють два періоди морфологічний та фізіологічний.

Вперше описав мікроорганізми голландський натураліст Антоні ван Левенгук (1632-1723). Виготовлений ним мікроскоп давав збільшення у 150 - 300 раз. Вивчаючи зубний наліт, дощову і колодязну воду, різні настої, він виявив у них різні за формою живі організми. Левенгук з великою точністю описав та замалював їх вигляд (морфологію).

Луї Пастер довів, що мікроорганізми відрізняється не тільки зовнішнім виглядом і будовою, а й особливостями обміну речовин. Відкрив збудників сибірки, холери курей. Вперше в світі розробив вакцини проти інфекційних хвороб, запропонував метод термічної обробки продуктів – пастеризацію

Його роботи поклали початок другому періоду в розвитку мікробіології – фізіологічному, коли почали вивчати функції мікроорганізмів. Луї Пастер встановив:

1) що процеси бродіння мають мікробіологічну природу крім того кожен вид бродіння обумовлений своїм специфічним збудником;

2) запропонував пастеризацію як метод боротьби з сторонніми мікроорганізмами;

3) Пастер пояснив, що інфекційні хвороби мають мікробну природу та виникають через проникнення в живий організм хвороботворних мікроорганізмів;

4) запропонував метод боротьби з інфекційними хворобами за допомогою прививок (вакцинації)

5) Пастер довів що деякі мікроорганізми можуть жити за відсутності кисню (анаеробізм).

Роберт Кох відкрив збудників туберкульозу, вперше застосував щільні живильні середовища для вирощування мікроорганізмів, виділив чисті культури мікроорганізмів, запропонував анілінові фарби для пофарбування мікроорганізмів, винайшов імерсійний об'єктив для мікроскопа.

Великий вклад у розвиток мікробіології внесли вітчизняні вчені.

І.І. Мечніков (1845 - 1916) створив фагоцитарну теорію імунітету, вивчив антагонізм мікробів і запропонував практичне використання антагонізму між молочнокислими і гнильними бактеріями з метою запобігання отруєння людини продуктами білкового розпаду, створив теорію боротьби з попередженням старіння організму. Вчення Мечнікова про антагонізм поклало початок вченню про антибіотики.

Д.І.Івановський (1864 - 1920) відкрив перший вірус – збудника табачної мозаїки. Він являється засновником сучасної вірусології.

Н.Ф.Гамалія (1859 – 1949) заснував у 1886 р. пастерівську станцію в Одесі по щепленню собак проти сказу, вперше спостерігав явище лізису (розчинення) сибіркових бацил у культурі, що привело до розвитку вчення про бактеріофаги – віруси бактерій. Гамалія вивчав збудників туберкульозу, сказу, холери і ін., розробив теорію інфекції і імунітету. Вперше використав хімічні вакцини. А також вивчав мінливість мікроорганізмів.

С.Н. Виноградський (1856 - 1958) являється засновником сільськогосподарської мікробіології. Вперше описав процес нитрифікації і денітрифікації, виявив азотофіксуючі ґрунтові бактерії.

В.Л.Омельяньський (1867- 1928) відкрив збудників анаеробного бродіння клітковини, написав перший підручник по загальній мікробіології.

В розвиток загальної мікробіології великий вклад внесли Н.Д.Ієрусалимський, Н.А. Красильников. Перший підручник по технічній мікробіології написав В.Н.Шапошников. Широко відомі роботи А.М.Козакова по мікробіології м'яса і м'ясних продуктів. Ним написаний перший підручник по мікробіології м'яса.

Роботи Я.Я Нікітінського сприяли розвитку мікробіології консервного виробництва і холодильного зберігання швидкопсувних продуктів.

1.3 Методи дослідження мікроорганізмів. Оптичний та електронний мікроскопи

Основними методами дослідження в мікробіології є: мікроскопічний (бактеріоскопічний і вірусоскопічний), культивування і виділення чистих культур мікроорганізмів, серологічні дослідження, метод біологічних проб, метод алергічних реакцій, генетичні методи дослідження мікроорганізмів.

Мікроскопічним методом користуються для вивчення за допомогою мікроскопа морфології мікроорганізмів, т. є форми, величини і будови. В даний час застосовують мікроскопію в світлому і темному полі, фазовоконтрастній, поляризаційну, люмінесцентну мікроскопію. Можливості мікроскопії надзвичайно розширилися з відкриттям електронного мікроскопа, за допомогою якого досягається збільшення об'єкта в 500 тисяч разів.

Мікроскопують мікроорганізми в живому і неживому стані. Для вивчення зовнішньої форми і структурних елементів клітини, тинкторіальних властивостей (здатності мікроорганізму до фарбування) готують пофарбований препарат, застосовуючи для цього різні барвники. Забарвлення може бути простою і складною. При простій забарвленні застосовують один з барвників. При складній забарвленні використовують кілька барвників в певній послідовності, в результаті чого різні елементи клітини фарбуються в різний колір.

При мікроскопії клітин в живому вигляді застосовують методи, що підвищують контрастність мікроорганізмів. Наприклад: темне поле, фазовий контраст, люмінесцентна мікроскопія.

Культивування мікроорганізмів передбачає створення штучних умов для підтримки процесів життєдіяльності і розмноження мікробів *in vitro* (у пробірці). Культивування застосовується в мікробіології для виділення мікроорганізмів із зовнішнього середовища, для виявлення збудника інфекційного захворювання і його виду, для накопичення мікробної маси при отриманні чистих культур бактерій, при виготовленні біологічних препаратів: вакцин, антигенів і алергенів.

Метод культивування передбачає приготування поживних середовищ, зберігання бактеріальних культур, отримання бактеріальних суспензій, розведення бактеріальних культур, посів бактеріальних культур або інокуляти, підрахунок бактеріальних клітин.

Для культивування мікроорганізмів в лабораторних умовах застосовують спеціально приготовлені поживні середовища. Живильні середовища можуть бути щільними, рідкими, напіврідкими, простими і складними.

Важливим елементом мікробіологічних досліджень є метод чистих культур, який був розроблений Р. Кохом в 1870 році і носить його ім'я. Цей метод дозволяє отримати чистий штам бактерій, вільний від інших мікроорганізмів. Він широко використовувався С. Н. Біноградським і іншими вченими для вивчення ролі мікроорганізмів в круговороті речовин в природі, у виникненні того чи іншого інфекційного захворювання.

Одним з методів медичної мікробіології є серологічне дослідження (Лат. Serum - сироватка), в основу якого лежить специфічна взаємодія антигену і антитіла в сироватці крові людини і тварин. Цей метод використовується з метою виявлення специфічних антитіл і встановлення діагнозу інфекційного захворювання.

В епідеміології серологічні дослідження використовують для виявлення джерела інфекції, стану колективного імунітету і ефективності вакцинації.

Серологічний метод дозволив впровадити в медичну практику серотерапію і серопротекцію. При серотерапії лікування інфекційних захворювань здійснюється імунними антибактеріальними і антитоксичними сироватками. При введенні таких сироваток в організм хворого відбувається знищення збудника захворювання і нейтралізація виділяється їм токсину.

Серопротекція спрямована на попередження інфекційних хвороб шляхом профілактичного введення в організм антитоксичної або антимікробної сироватки, сироватки крові здорових людей або гамма-глобуліну.

Метод біологічних проб використовується в медичній і ветеринарній мікробіології і полягає в зараженні експериментальних тварин збудниками різних захворювань з метою з'ясування перебігу інфекційного захворювання, шляхів його поширення та методів його лікування.

Метод алергічних реакцій широко використовується в медицині для виявлення підвищеної чутливості організму до хвороботворних мікробів і продуктів їх життєдіяльності.

Генетичний метод дослідження впроваджено в практику мікробіологічних досліджень відносно недавно. Залучення мікроорганізмів в якості об'єктів генетичних досліджень відкрило нову епоху не тільки в генетиці, а й в біології взагалі. На мікроорганізмах можна вивчати і моделювати всі основні закономірності спадковості і мінливості.

Побачити мікроорганізми неозброєним оком неможливо, їх можна спостерігати лише за допомогою оптичних приладів – мікроскопів.

Мікроскоп — прилад для розглядання дрібних, невидимих для неозброєного ока, предметів у збільшеному зображенні.

Історично першим приладом, який використовувався з такою метою був оптичний мікроскоп, дія якого базується на заломленні світла системою лінз. Оптичний мікроскоп дає збільшення до 3000 разів. У електронному мікроскопі, винайденому в 30-х роках 20 ст., збільшене зображення одержують за допомогою пучків електронів. Він дає збільшення в десятки і сотні тисяч разів. Винайдені у 80-х роках 20 ст. атомний силовий мікроскоп та тунельний мікроскоп дозволяють розглядати зображення об'єктів ядерного масштабу — окремі атоми й молекули.

Оптичний мікроскоп — мікроскоп, в конструкції якого використовується набір лінз, які при перегляді збільшують зображення дрібних об'єктів. Хід променів в мікроскопі відбивається від дзеркальної поверхні нижче спостережуваного об'єкта, проходить крізь досліджуваний об'єкт, входить до об'єктів мікроскопа, збільшується за рахунок лінзи і окуляра, і тоді ми побачимо збільшене зображення. А окуляром ми регулюємо чіткість.



Малюнок. 1

Побудоване за допомогою лінз зображення проектується в окуляр. Освітлення об'єктів, що розглядаються, відбувається за допомогою невеликого рухомого дзеркальця, яке кріпиться під предметним столиком. Такий тип мікроскопів є традиційним, а також він простий у виготовленні і використанні. Оптичні мікроскопи діляться на монокулярні, бінокулярні, залежно від кількості окулярів і способу перегляду зображення.

Електронний мікроскоп — надпотужний прилад, який використовує, на відміну від оптичного мікроскопа, замість світлового потоку, пучок електронів. Такий тип мікроскопів набагато потужніший за звичайні світлові мікроскопи, а роздільна здатність вище в 1000—10 000 разів.



Малюнок 2

Принцип дії електронному мікроскопі для отримання зображення використовуються фокусовані пучки електронів, якими бомбардується поверхня досліджуваного об'єкта. Зображення можна спостерігати різними способами — в променях, які пройшли через об'єкт, у відбитих променях, реєструючи вторинні електрони або рентгенівське випромінювання. Фокусування пучка електронів відбувається за допомогою спеціальних електронних лінз. Електронні мікроскопи можуть збільшувати зображення у 2 млн разів. Висока роздільна здатність електронних мікроскопів досягається за рахунок малої довжини хвилі електрона. В той час, як довжина хвилі видимого світла лежить в діапазоні розміром з атом, хоча практично здійснити це важко.

1.4 Роль мікроорганізмів у природі та на виробництві

Мікроорганізм перебувають скрізь: у ґрунті, воді, повітрі, на предметах, які нас оточують, на продуктах харчування і кормах, рослинах, на поверхні тіла людини і в шлунково-кишковому тракті людини і тварин. Їх знаходять в снігах Антарктиди і в гарячих джерелах – гейзерах, в пекучих пісках пустель, у стратосфері у глибинах шахт, морів та океанів тощо. Мікроорганізми, займаючи майже всі екологічні ніші, становлять чи не найбільшу складову живої речовини планети.

В усіх сферах природи на частку мікроорганізмів припадає переважна більшість біохімічних перетворень. У безупинному циклі перетворень: мінеральні речовини – зелені рослини – тварини – мікроорганізми – мінеральні речовини – вирішальна роль належить мікробам. Вони зумовлюють кругообіг речовин і енергії в природі. З життєдіяльністю мікроорганізмів пов'язане утворення деяких руд, кам'яного та бурого вугілля, торфу та інших корисних копалин.

Винятково важливе значення мають мікроорганізми, що їх використовують в різних галузях народного господарства, наприклад у таких необхідних для життя людини процесах, як випікання хліба, виробництво молочнокислих продуктів, ферментів, кормового білка, амінокислот, вітамінів, антибіотиків, гормонів, вакцин та інших лікарських препаратів, органічних кислот та стимуляторів росту, бактеріальних добрив та засобів захисту рослин тощо. Мікробіологічні процеси лежать в основі виробництва спирту, вина, пива, силосування кормів для тварин тощо.

Сучасні досягнення мікробіологічної науки дозволили вітчизняним та зарубіжним вченим розробити теоретичні основи технології бактеріального вилуження кольорових, рідкісних та благородних металів з бідних руд, рудних концентратів, відходів гірничовидобувної промисловості, оскільки існуючі технології одержання з таких руд міді, нікелю, хрому, олова, молібдену, урану, золота тощо ще недостатньо ефективні.

Досягнення сучасної мікробіології ґрунтуються на розвитку фізики, хімії, біохімії, молекулярної біології, генетики, фізіології та інших природничих наук. Мікробіологію не можна вивчати у відриві від цих наук, бо деякі з них є основою для розуміння її положень, а інші уможливають практичне застосування її досягнень. Знання з ботаніки та зоології полегшують вивчення мікробіології, зокрема таких її розділів, як місце і роль мікроорганізмів у природі, анатомія і морфологія бактерій, систематика й положення мікробів тощо.

Кінець ХХ сторіччя ознаменувався виникненням цілої низки глобальних проблем: дефіцит харчового білка внаслідок швидкого збільшення населення Землі, надзвичайно швидке вичерпування природних ресурсів, які не поновлюються, енергетична криза, антропогенне забруднення довкілля та ін. Важливу роль у вирішенні цих проблем повинна відіграти сучасна біотехнологія, стрижнем якої є мікробіологія.

Європейська федерація з біотехнології у 1984 р. визначила біотехнологію як інтегроване використання біохімії, мікробіології та інженерних наук з метою промислового застосування здатностей мікроорганізмів, культури тканин клітини, щоб забезпечити людей потрібними продуктами та послугами.

Lecture

Останнім часом біотехнологія досягла відчутних успіхів в розвитку промислової мікробіології, підприємства якої постачають селу, крім кормового білка, незамінні амінокислоти (лізин, глютамінову кислоту, треонін та інші), ферменти, ветеринарні антибіотики, вітаміни, бактеріальні добрива, мікробіологічні засоби захисту рослин, поживні середовища.

Випускаються також препарати для потреб харчової промисловості (ферментні препарати, різні закваски для хлібопечення і приготування молочнокислих продуктів), текстильної, хімічної, медичної, кондитерської, парфумерної та інших галузей промисловості, а також для наукових цілей. Мікробіологічна промисловість випускає нині понад 150 різних видів продукції.

За допомогою мікробіології дістають додаткові джерела енергії у вигляді біогазу, етанолу, метанолу, водню тощо внаслідок використання ними відходів сільського господарства, промисловості, а також сонячної енергії. У деяких випадках біотехнологія дозволяє водночас вирішувати як енергетичні, так і екологічні проблеми.

Застосування досягнень сучасної мікробіології в різних галузях народного господарства через перспективність, різноманітність і специфічність спричинило утворення низки самостійних дисциплін, а саме: загальної, сільськогосподарської, медичної й ветеринарної, технічної, або промислової, водної, геологічної і космічної мікробіології. Бурхливо розвивається як самостійна дисципліна загальна і спеціальна вірусологія.

Питання для самоконтролю.

1. Що таке мікробіологія та її завдання як науки?
2. Які відкриття зробив Л.Пастер?
3. Перелічіть основні методи дослідження в мікробіології та дайте їх коротку характеристику.
4. Яка роль мікроорганізмів в природі?
5. Яка роль мікроорганізмів в сучасній промисловості?

ТЕМА 2 МОРФОЛОГІЯ ТА СИСТЕМАТИКА МІКРООРГАНІЗМІВ

План

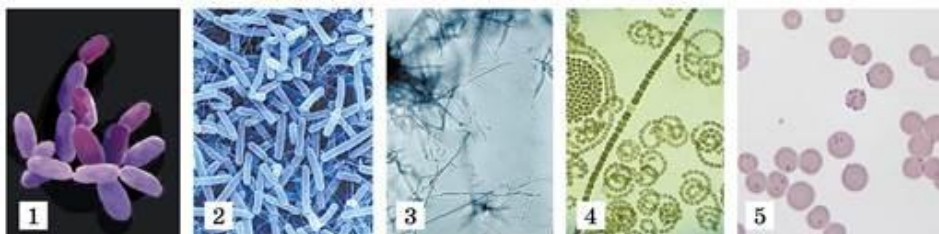
1. Морфологія та класифікація мікроорганізмів.
 - 1.1 Форми та розміри бактерій. Принципи систематики мікроорганізмів. Місце мікроорганізмів у системі живих істот.
 - 1.2 Будова клітини бактерії. Рух бактерій.
 - 1.3 Розмноження та спороутворення у бактерій.
2. Мікроскопічні гриби.
 - 2.1 Особливості будови мікроскопічних грибів.
 - 2.2 Вегетативне та статеве розмноження грибів.
 - 2.3 Дріжджі, дріжджевидні організми, як представники мікроскопічних грибів.
3. Віруси і фаги, їх місце серед мікроорганізмів.

1 Морфологія та класифікація мікроорганізмів

1.1 Форми та розміри бактерій.

Принципи систематики мікроорганізмів. Місце мікроорганізмів у системі живих істот.

Для більшості представників мікросвіту характерною є одноклітинна будова. Бактеріальна клітина оточена оболонкою (а в окремих випадках цитоплазматичною мембраною) і містять цитоплазму та різні органели. За основними типами клітинної будови всі живі організми поділяються на дві великі групи – прокаріоти та еукаріоти.



Малюнок 3. Різноманіття прокаріотів: 1 — археї; 2 — бактерії (кишкова паличка); 3 — актиноміцети; 4 — ціанобактерії; 5 — мікоплазми

Прокаріотами (доядерні) називають мікроорганізми, які не мають чітко диференційованого ядра, а містять його аналог — нуклеоїд. До них належать бактерії і синьозелені водорості, які ще називають ціанобактеріями. Вважають, що прокаріоти – похідні первісних організмів, які існували понад три мільярди років тому. До прокаріотів відносять і недавно відкриті архебактерії.

Еукаріотамим (ядерні) називають всі одноклітинні і багатоклітинні організми, які мають сформоване ядро, відмежоване від цитоплазми ядерною мембраною. До еукаріотів, що їх вивчають у мікробіології, належать представники грибів, водоростей і найпростіших. За будовою вони подібні до рослин і тварин.

Дослідниками ультраструктури клітин з'ясовано глибокі фундаментальні відмінності у будові прокаріотних і еукаріотних клітин. Прокаріотна клітина має тільки одну внутрішню порожнину, яка утворена клітинною мембраною. У прокаріотній клітині відсутні оточені ліпопротеїдними мембранами органели, тобто вона не має внутрішніх замкнутих вторинних порожнин. У клітин прокаріотів ядерний апарат не відмежований ядерною оболонкою від цитоплазми. У них відсутні мітохондрії і хлоропласти, ендоплазматична сітка, диктіосоми, лізосоми і мікротільця тощо. Геном у цих мікроорганізмів являє собою кільцеву хромосому, яка складається з ДНК.

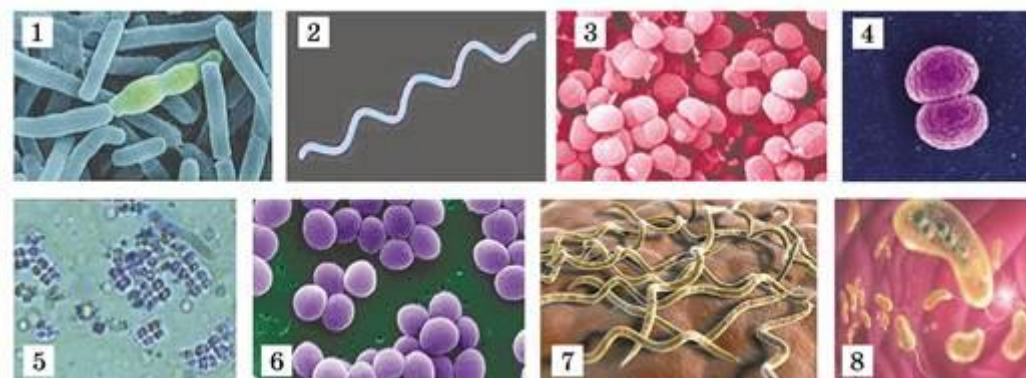
В еукаріотних клітинах, на відміну від прокаріотних, є вторинні порожнини, ядро, оточене подвійною мембраною, утворює вторинну порожнину. В цитоплазмі еукаріотів є мітохондрії, хлоропласти та інші органели, які також утворюють вторинні порожнини.

Порівняльна характеристика прокаріотів і еукаріотів

№	Відмінні ознаки	ПРОКАРІОТИ	ЕУКАРІОТИ
1	Походження назви	Грец. pro – замість + karyon – ядро	Грец. eu – добре, повністю + karyon – ядро
2	Середній розмір клітин	1-10 мкм	10-50 мкм
3	Справжнє ядро з ядерною оболонкою	Відсутнє (є нуклеоїд)	Є
4	Організація ДНК	Окремі молекули, не зв'язані з гістонами. Замкнена в кільце	У хромосомах, звичайно зв'язана з гістонами. Лінійна структура
5	Кількість хромосом	Одна хромосома	Дві та більше хромосом
6	Склад хромосом	ДНК	ДНК і білок
7	Набір хромосом	Гаплоїдний	Гаплоїдний або диплоїдний
8	Цитоплазматична ДНК	Не оточена мембраною (плазмід)	Оточена мембранами (мітохондрії, пластиди)
9	Клітинна стінка	Містить пептидоглікани	Побудована з простих органічних або неорганічних речовини
10	Склад мембран	Не містять стеролів	Містять стероли
11	Двомембранні і одномембранні органели	Відсутні	Є
12	Розмір рибосом	Менший (70 S)	Більший (80 S)

13	Травні вакуолії	Відсутні	Є
14	Клітинний центр	Відсутній	Присутній у більшості тварин і нижчих рослин
15	Будова джгутиків	Простіша: складаються з однієї або декількох фібрил	Складніша: складаються з 20 фібрил, зібраних у групи ($2 \times 9 + 2$)
16	Рух цитоплазми	Відсутній	Часто спостерігається
17	Спосіб поглинання їжі	Абсорбція через клітинну стінку	Фагоцитоз і піноцитоз (у тваринних клітин)
18	Дихальна система	Є частиною мембран, або мезосом	Розташована у мембранних органелах
19	Дихання	Анаероби та аероби	Переважно аероби
20	Процес фотосинтезу	Пігмент бактеріохлорофіл. У бактерій не супроводжується виділенням кисню	Пігменти: хлорофіл а, b, c, d, e. Супроводжується виділенням кисню
21	Спосіб ділення клітин	Прямий поділ	Мітоз, мейоз
22	Статеві клітини	Сам організм	Сам організм або спеціальні клітини
23	Статевий процес	Типовий статевий процес відсутній. Передається лише частина спадкової інформації	Є типовий статевий процес. Передається весь набір хромосом
24	Особливості	Чутливі до пеніциліну. Стійкі до гамма-випромінювання. Верхня температурна межа $75-90^{\circ}\text{C}$	Нечутливі до пеніциліну. Низька стійкість до гамма-випромінювання. Верхня температурна межа $40-60^{\circ}\text{C}$

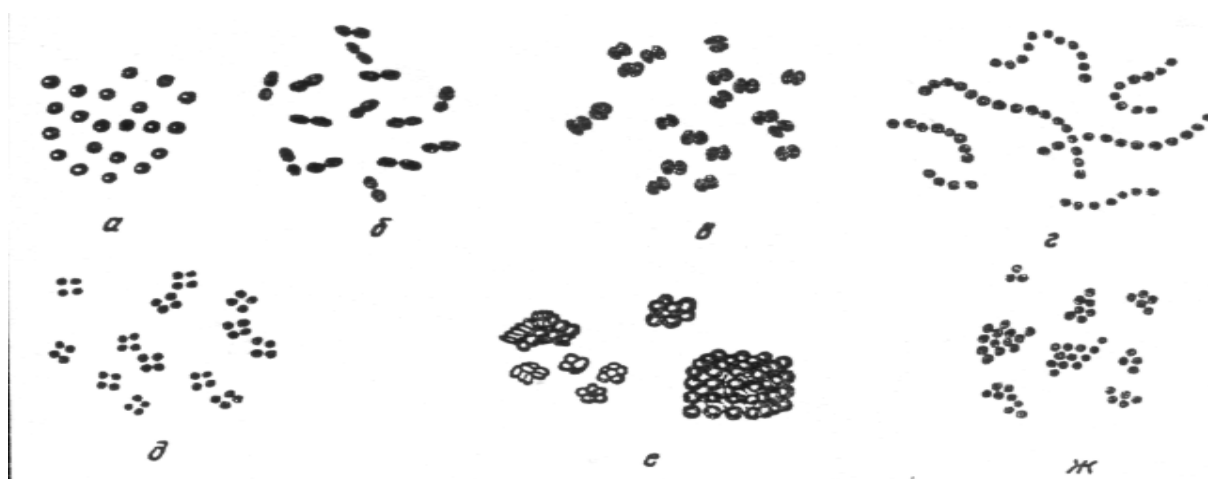
Бактерії (від лат. *bacteria* – паличка) це безбарвні, одноклітинні мікроорганізми, відзначаються простотою форми, які розмножуються шляхом прямого поділу. Бактерії відносяться до царства Прокаріотів. За зовнішніми ознаками розрізняють три основні форми мікроорганізмів: кулеподібні (коки) ; паличковидні; спіралевидні.



Мал. 4. Форма клітин бактерій: 1 — бацили; 2 — спірили; 3 — коки; 4 — диплококи; 5 — тетракоки; 6 — стафілококи; 7 — спірохети; 8 — вібріони

По розташуванню клітин одна до одної коки поділяють на:

- а) мікрококи – клітини розміщені поодинокі;
- б,в) диплококи – клітини розміщені попарно;
- г) стрептококи – у вигляді ланцюжків;
- д); тетракоки – по чотири;
- е) сарцини – у вигляді тюків, пакетів по 8, 16, 32 і більше клітин;
- ж). стафілококи – у вигляді виноградного грона.

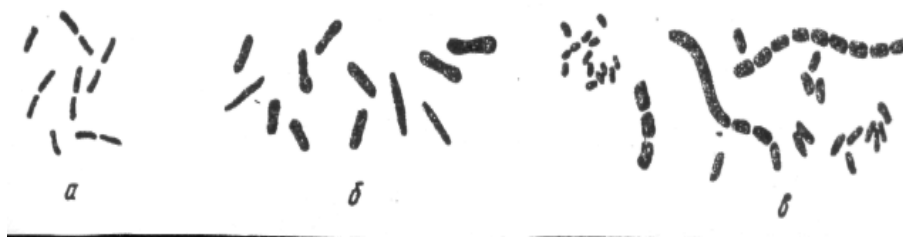


Мал. 5

Кулясті бактерії можуть мати форму сфери, еліпса, бувають бобовинні та ланцетоподібні. Мікрококи характеризуються поодиноким розміщенням клітин під час поділу в одній площині. Їх завжди можна знайти в ґрунті, воді

та повітрі. Диплококи – коки які діляться в одній площині і після поділу їх клітини розміщуються попарно. До них належать представники як сапрофітних, так і патогенних мікроорганізмів. Стрептококи – коки, розміщені у вигляді ланцюжка, утворюються за поділу тільки в одній площині, як і диплококи. Тетракоки – коки, які діляться в двох взаємно перпендикулярних площинах і після поділу утворюють тетроди. Ця форма бактерій трапляється зрідка. Сарцини – коки, розміщені у формі правильних пакунків по 8-16 і більше клітин, діляться в трьох взаємно перпендикулярних площинах. Найчастіше сарцини трапляються в ґрунті та повітрі. Стафілококи – кулясті бактерії, які діляться в кількох площинах і утворюють скупчення, що нагадують виноградні грона. Патогенні стафілококи, наприклад золотистий стафілокок є збудниками гнійних інфекцій. Але серед стафілококів є й сапрофіти.

Паличковидні форми характерні для більшості бактерій. Їх прийнято поділяти на дві групи - бактерії та бацили. Бактерії – це паличковидні мікроорганізми, які не утворюють спори (монобактерії, диплобактерії, стрептобактерії). Бацили – це спороутворюючі мікроорганізми, спора в яких не більша за діаметр клітини. Клостридії – це спороутворюючі мікроорганізми, спора в яких більша за клітину, розташована на одному із кінців, деформує клітину і по формі нагадує веретено, тенісну ракетку, полум'я свічки.



Мал 6. Паличковидні форми бактерій

а- диплобактерії; б – палички з закругленими, загостреними, обрубленими і потовщеними кінцями; в- різні паличковидні форми і стрептобактерії

Подібно до коків, паличко видні бактерії можуть розміщуватися попарно (диплобактерії, диплобацили), та ланцюжками (стрептобактерії, стрептобацили), наприклад сінна паличка та збудник сибірки. Серед деяких видів паличко видних бактерій, особливо в старих культурах, бувають різновиди, які мають бокові вирости (туберкульозна паличка). Є також бактерії, що можуть утворювати булаво видні потовщення (збудники дифтерії).

До звивистих (спіралевидних) бактерій належать вібріони, спірили, спірохети і лептоспіри. Вібріони – мають один завиток по формі нагадують кому, Типовим представником цих мікробів є збудник холери. Спірили – мають від 1 до 5 завитків по формі нагадують штопор. Спірохети і лептоспіри – мають безліч завитків, мають вигляд зігнутого довгого гвинта. Звивистість клітини спірохет обумовлена характером їхнього руху. Серед цих бактерій є як сапрофітні так і патогенні види.

а -вібріони; б- спірили



Мал.7

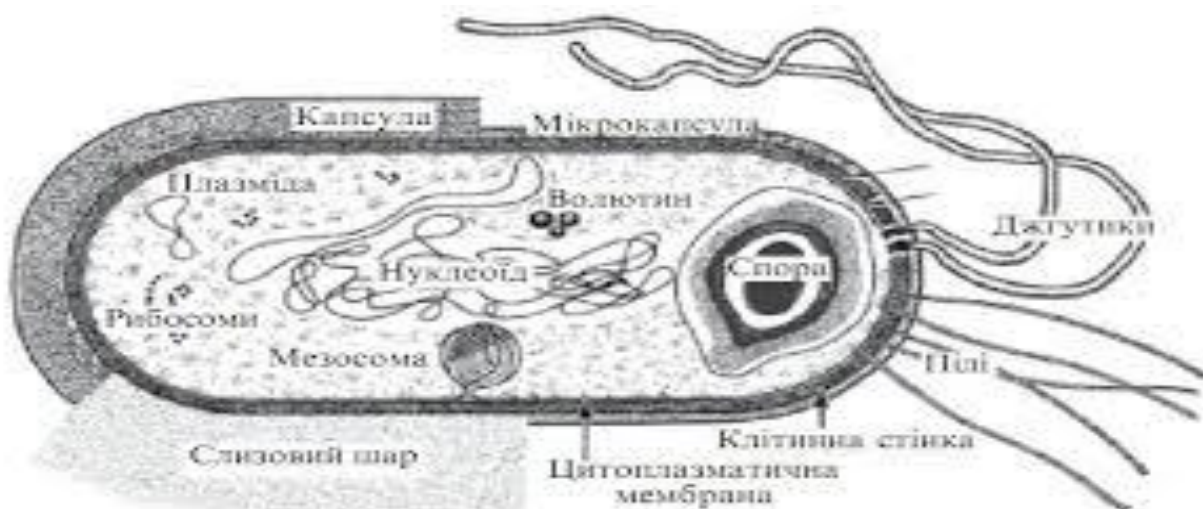
Розміри бактерій від 0,1 –7 мкм. Вага $4 \cdot 10^{-13}$ г.

Форма і розміри бактерій можуть змінюватися під дією зовнішніх факторів, таке явище називається поліморфізмом.

1.2 Будова клітини бактерії. Рух бактерій.

К л і т и н н а о б о л о н к а – надає постійну форму мікроорганізмам, вона щільна, еластична, напівпрониклива, захищає клітину від дії зовнішнього середовища, пропускає поживні речовини і виділяє продукти обміну.

Ц и т о п л а з м а т и ч н а м е м б р а н а – виконує функцію розподільної перетинки, через яку проходить транспортування речовин, потрібних для життєдіяльності клітини. А також вона регулює осмотичний тиск у клітині. Складається із трьох шарів (2 білкових і 1 жировий).



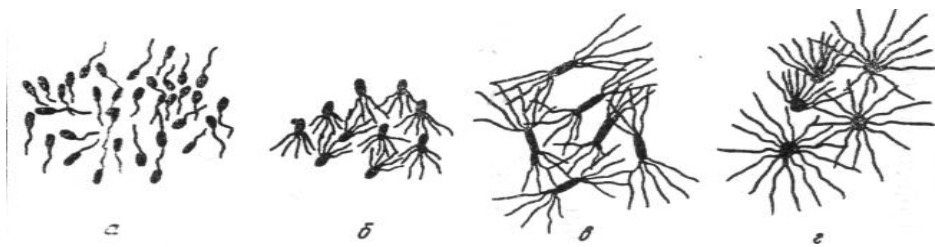
Мал.8

Цитоплазма з включеннями – це частина клітини, що не має стінки, вона являє собою колоїдну суміш, що складається з ДНК, РНК, води, білків, ліпідів, полісахаридів. В цитоплазмі є вакуолі, глікоген, рибосоми, мезосоми, мітохондрії. Рибосоми – сферичної форми, у них проходить синтез білків. Мітохондрії – нитчастої форми у них проходять окисно - відновні процеси. Мезосоми – спіральної форми, приймають участь у поділі клітини

Нуклеоїд бактерій, як недосконалих ядра немає, а є структуро - подібний орган - подвійна нитка ДНК, яка несе генетичну інформацію про спадковість.

Деякі бактерії мають джгутик – це виріст білкової природи за допомогою якого вони рухаються у рідкому середовищі. Рухи бувають повзаючі і плаваючі. За характером розташування джгутиків бактерії поділяються на:

- монотрихи – мають одним джгутик ;
- лофотрихи – одним пучок джгутиків ;
- амфітрити – два пучки джгутиків ;
- перитрихи – джгутики розташовані по всій поверхні.



Мал 9. Основні типи розміщення джгутиків у бактерій

Коли клітина потрапляє в несприятливі умови (недостатня кількість поживних речовин, низька або висока температура і.т.д.) вона утворює капсулу або спору.

Капсула – це слизовий шар навколо клітини, який захищає її від дії зовнішнього середовища, мікрокапсула (до 0,2 мкм) та макрокапсула.

1.3. Розмноження та спороутворення у бактерій.

Під поняттям ріст розуміють гармонійне збільшення всіх хімічних компонентів , з яких складається бактеріальна клітина. Ріст прокаріотів залежить насамперед від того, чи є в середовищі вода, поживні речовини, фізіологічно активні речовини тощо. Ріст паличко видних прокаріот них клітин відрізняється кулястих. Перші ростуть переважно в напрямку довгої вісі, а другі – рівномірно в усіх напрямках.

Ріст бактерій завершується їхнім розмноженням , яке виявляється у збільшенні кількості особин мікробної популяції на одиницю об'єму. Найчастіше бактерії розмножуються нестатевим, бінарним поділом. Відомо два типи поділу бактеріальної клітини: за допомогою перегородки і перешнурування. У разі першого типу поділу посередині клітини починається формуватися поперечна перегородка, яка спочатку складається з

цитоплазматичної мембрани і розмежовує цитоплазму материнської клітини на дві дочірні. Далі синтезується оболонка і утворюється дві нові клітини.

Грамнегативні бактерії поділяються переважно перешнуровуванням, тобто звуженням клітини в місцях поділу, аж доки вони не поділяться на дві. Різновидом бінарного поділу бактерій є брунькування. При цьому розмноженні на одному з полюсів материнської клітини утворюється брунька, яка в процесі росту збільшується до розміру материнської клітини, а потім відділяється від неї. Під час брунькування оболонка бруньки повністю синтезується заново.

Швидкість розмноження залежить від складу поживного середовища, виду мікроорганізмів, температури, рН. Якщо умови сприятливі то поділ проходить через кожні 20-30 хвилин.

Дріжджі – спорами, простим поділом і бруньками. Плісені – статевим і безстатевим шляхом.

Розмноження на штучних живильних середовищах відбувається в декілька стадій.

I. фаза – лаг – фаза або фаза затримки росту. Мікроорганізми нерозмножуються, а пристосовуються до навколишнього середовища. Триває 1-2 год.

II. фаза – фаза логарифмічного росту – мікроорганізми починають інтенсивно рости і розмножуватися. Триває до тих пір поки є поживні речовини.

III. фаза – стаціонарна або період зрілості кількість клітин доходить до максимуму і деякий час залишається на одному рівні.

IV. фаза – фаза старіння, клітини починають відмирати.

Спора – це ущільнення в цитоплазмі з багатошаровою оболонкою. Найчастіше спороутворення у бактерій спричиняється браком поживних речовин, нагромадженням у середовищі шкідливих продуктів обміну, несприятливою температурою, зміною рН середовища тощо. Отже, спороутворення у бактерій можна розглядати як пристосування організму до виживання в несприятливих умовах середовища.

Спороутворення триває 4-20 год. і тільки певних умовах (температура 10 – 42⁰С, наявність кисню). На утворення спори витрачається більша частина протоплазми. Вони стійкі до висушування, заморожування. Коли спора потрапляє в сприятливе середовище вона проростає в вегетативну форму і розмножується. Ендоспори утворюються в середині клітини, екзоспори – зовні.

Коли бацила потрапляє в умови, які зумовлюють утворення спор, в її клітинці розпочинаються структурні зміни ядерного апарату. На першій стадії утворення спори нуклеоїд вегетативної клітини набуває форми видовженого тяжка, що проходить уздовж довгої осі клітини. На другій стадії з осьового тяжка виокремлюється дві частини: мала – нуклеоїд майбутньої спори і велика – нуклеоїд клітини, в якій утворюється спора. Малий нуклеоїд локалізується на полюсі клітини. Цей поділ супроводжується появою перегородки. На третій стадії мембрана більшої клітини разом з цитоплазмою оточують меншу клітину, і в ній утворюється овальної форми протоспора, оточена двома мембранами – зовнішньою і внутрішньою. Протоспора відділяється від

материнської клітини. Четверта стадія утворення спори характеризується утворенням специфічної оболонки спори. На п'ятій стадії формування покриви спори, що складаються з кількох шарів різної товщини і будови у різних видів бактерій. Ці зовнішні оболонки надають спорі стійкість до дії ферментів, отрут, поверхнево-активних речовин тощо. На шостій стадії завершується дозрівання спор, яке супроводжується синтезом особливої сполуки – дипіколінової кислоти та іншими хімічними змінами. На цій стадії спора набуває властивості високої стійкості до температури, висушування, дії хімічних речовин, ультрафіолетових та іонізуючих променів тощо. Так спори сінної палички витримують кип'ятіння протягом двох годин. Описано також спори бактерій, які залишилися живими при кип'ятінні в концентрованій HCl протягом 20 хвилин. Спори можуть зберігати життєдіяльність тривалий час. У літературі є дані, що життєздатні спори бактерій було виділено з трупів мамонтів і єгипетських мумій, вік яких сягає тисячоліть.

Розрізняють три види розташування спор у бактеріальних клітинах. Бацилярне - в центрі, кластридальне – екс центрально (клітини набувають веретеноподібну форму), плектридиальне – спори містяться на кінцях паличок (клітини формою барабанної палички або тенісної ракетки).

Потрапляючи в сприятливі умови, спори проростають і перетворюються в вегетативні клітини. У багатьох бактерій спори проростають лише після певного періоду спокою, і тому не завжди проростають за сприятливих умов. Процес проростання ендоспор складається з таких етапів: активації, ініціації і власне проростання. Активация проростання спор стимулюється насамперед тепловим обробленням. Ініціація залежить від температури, вологості рН тощо, а також індуктується ультразвуком, тиском, механічною дією та іншими чинниками.

Проростання починається з інтенсивного поглинання спорою води та її набряканням. Потім на стадії власне проростання відбуваються глибокі фізіологічні зміни – різко зростає активність ферментів, підвищується інтенсивність дихання, починається активний синтез білка і нуклеїнової кислоти, і нарешті, лізис та розрив оболонок спори і вихід ростової трубки.

Крім ендоспор, прокаріоти мають властивість утворювати інші форми клітинних структур. Під час перебування у стані спокою це допомагає їм переносити тривалий час дію несприятливих умов. До таких структур належать екзоспори, які утворюються переважно у актиноміцетів. Вони водночас є спочиваючими та репродуктивними формами.

2. Мікроскопічні гриби.

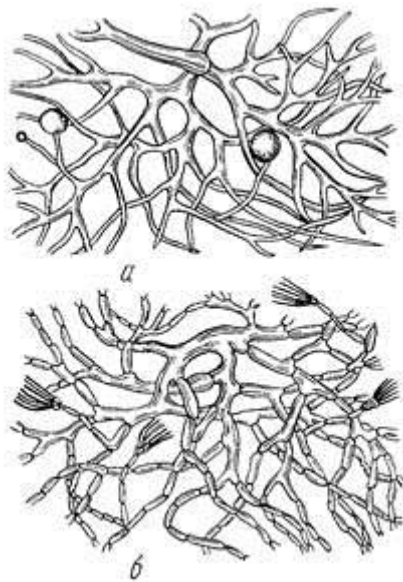
2.1 Особливості будови мікроскопічних грибів.

Мікроскопічні гриби – дуже велика і різноманітна група рослинних організмів, дор яких відносяться цільові гриби, дріжджі тощо. Це нижчі еукаріотні одноклітинні і міцелярні хемеоорганотрофні організми. Серед них є сапрофіти, паразити і хижаки. Вони розповсюджені скрізь у ґрунті, воді, на рештках рослин та тварин, харчових продуктах тощо. У ґрунті гриби розкладають органічні речовини, в тому числі і такі складні сполуки, як клітковина, лігнін, а також вироби з пластмаси, гуми, нафтопродукти тощо.

Серед грибів є збудники хвороб рослин, тварин і людини. Вони не мають хлорофілу, не здатні до синтезу органічних речовин з вуглекислого газу і для розвитку потребують готових органічних речовинах.

Багато грибів вживають в їжу, використовують в промислових виробництвах для отримання органічних кислот, вітамінів, ферментів, антибіотиків.

Численні гриби, що розвиваються на харчових продуктах, промислових матеріалах і виробках, що викликають їх псування і руйнування. Деякі з них здатні виробляти токсичні для людини речовини – мікотоксини. Існують гриби, які вражають культурні рослини в процесі їх вегетації, наносячи велику втрату сільському господарству. Є гриби, патогенні для людини і тварин. Будова тіла гриба. Вегетативне тіло більшості грибів є грибницею, або міцелієм, що складається з ниток, що гілкуються, – гіфів. Тіло деяких грибів є одиночними округлими або подовженими клітками (дріжджі). Не мають міцеліальної будови і нижчі, найбільш примітивні форми; вегетативне тіло більшості з них є протопласт без клітинної стінки (оболонки). У одних грибів міцелій клітинний – гіфи розділені перетинками (септами) на клітки, часто багатоядерні; у інших – міцелій неклітинний, гіфи не мають перетинок і весь міцелій є як би однією гігантською кліткою з великим числом ядер (мал. 1).



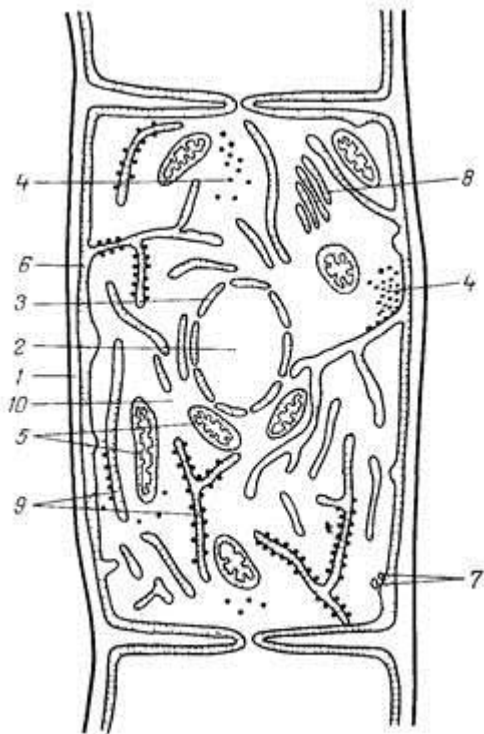
Мал. 10. Міцелій грибів: *a* – неклітинний; *б* – клітинний

Товщина гіф різноманітна, розмір їх поперечника коливається від 5 до 15 мкм і більше. Гіфи ростуть вершиною або кінцями розгалужень, у зв'язку з чим клітинки гіф неоднорідні по довжині. Частина міцелію розвивається в субстраті (субстратний міцелій), пронизуючи його і всмоктуючи з нього воду і повільні речовини. Частково міцелій розвивається на поверхні субстрата (повітряний міцелій) у вигляді пухнастих, павутиноподібних або тонких нальотів, плівок. Гіфи окремих грибів можуть щільно переплітатися і навіть зростатися між собою. У деяких грибів гіфи з'єднуються паралельно в тяжі, що досягають іноді декількох метрів в довжину, по ним притікає вода і повільні речовини.

З щільного сплетення гіф утворюються так звані плодові тіла грибів, в яких знаходяться органи розмноження.

Видозміненим міцелієм є склероції – звичайно темні, різної форми щільно переплетених гіф (див. мал. 3б). Склероції стійкі до несприятливих умов зовнішнього середовища, багаті запасними поживними речовинами.

Гриби мають еукаріотний тип клітини, будова її схоже з клітинами інших рослинних організмів, але у грибів відсутні пластиди (мал. 2). Клітки більшості грибів мають багат шарову клітинну стінку, що перебуває на 80–90 % з полісахаридів; у невеликій кількості є білки, ліпіди, поліфосфати. Основним полісахаридом у клітинній стінки більшості грибів є хітин, у деяких – целюлоза. Під клітинною стінкою розташована тришарова цитоплазматична мембрана.



Мал.11. Схема будови грибової клітини:

1 – клітинна стінка; 2 – ядро; 3 – ядерна оболонка; 4 – рибосоми; 5 – мітохондрії; 6 – цитоплазматична мембрана; 7 – лізосоми; 8 – апарат Гольджі; 9 – ендоплазматична мережа; 10 – цитоплазма .

У цитоплазмі знаходяться численні органоїди – структури різної будови і функцій.

Мітохондрії – утворення з ліпопротеїнових мембран, в яких здійснюються енергетичні процеси і синтезується АТФ – речовина, багата енергією.

Ендоплазматичний ретикулум (ендоплазматична мережа) – мембранна система з взаємозв'язаних каналців (що місцями звужуються або розширюються), яка пронизує цитоплазму і пов'язана з цитоплазматичною мембраною ядра. У цьому органоїді відбувається синтез багатьох речовин (ліпідів, вуглеводів і ін.).

Апарат Гольджі – мембранна система, пов'язана з ендоплазматичною мережею. До його різноманітних функцій відносяться транспортування речовин, що синтезуються в ендоплазматичній мережі, а також видалення з клітки продуктів обміну.

Рибосоми – дуже дрібні, округлі, численні утворення. Частина їх знаходиться у вільному стані, а частина прикріплена до мембран. У рибосомах відбувається синтез білка.

Лізосоми – дрібні округлі тельця, покриті мембраною. У них містяться ферменти, які перетравлюють білки, вуглеводи, ліпіди, що надходять ззовні.

Ядро (або декілька ядер) оточене подвійною мембраною. У нуклеоплазмі є ядерце і хромосоми, що містять ДНК.

Вакуолі – порожнини, оточені мембраною, заповнені клітинним соком і включеннями запасних живильних речовин (волютину, глікогену, жиру).

2.2 Вегетативне та статеве розмноження грибів. Систематика грибів

Відмітною особливістю грибів є велика різноманітність у них способів і органів розмноження. Один і той же гриб часто має декілька форм розмноження. При цьому гриб може настільки міняти свою зовнішню форму, що в кожній з них його розглядають як самостійний вид.

Гриби розмножуються вегетативним, безстатевим і статевим спороутворенням.

Вегетативне розмноження відбувається без утворення яких-небудь спеціалізованих органів: частинами міцелію або окремими клітинами – оідіями (артроспорами), що утворюються в результаті розчленовування гіф (мал. 4, а), які на поживному субстраті розростаються в грибницю. Розмноження відбувається і хламідоспорами – товстостінними клітками, стійкими до несприятливих умов (мал. 3, а).

При безстатевому і статевому розмноженні утворюються спеціалізовані клітини – спори, за допомогою яких і здійснюється розмноження.

При нестатевому способі розмноження спори утворюються на особливих гіфах повітряного міцелію, що зовні відрізняються від інших гіф.

У деяких грибів спори утворюються екзогенно (відкрито) – на вершині гіф, зовні них. Такі утворення називають конідіями, а гіфи, що несуть їх, – конідієносцями (мал. 4, б).

Конідієносці розвиваються на міцелії поодинокі або групами. При груповому розвитку конідієносці одних грибів об'єднуються в пучки (коремії), у інших – вони розміщуються тонким шаром в особливих глечикоподібних утвореннях (пикніди) або блюдцеподібних (ложе) утвореннях з щільного сплетення гіф (мал. 5).

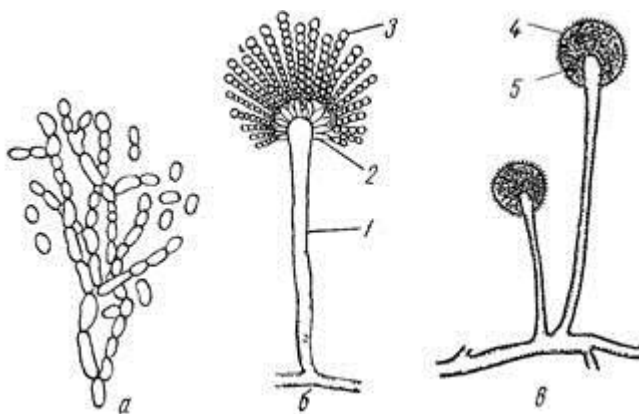
Конідії утворюються безпосередньо на конідієносці або на спеціальних клітинах, розташованих на його вершині. Ці клітини звичайно мають форму

пляшок і називаються стеригмами або фіалідами. Конідії розташовуються на конідієносцях (або на стеригмах) поодинокі, групами, ланцюжками і т.д.

У інших грибів спори утворюються ендогенно – усередині особливих клітин, що розвиваються на кінцях гіф. Ці клітини – вмістища спор – називають спорангіями, спори, що знаходяться в них, – спорангіоспорами, а гіфи, що несуть спорангії з спорами, – спорангієносці (мал. 4, в). Від гіфа спорангії відокремлені перетинкою (колонкою), яка вростає всередину спорангія.

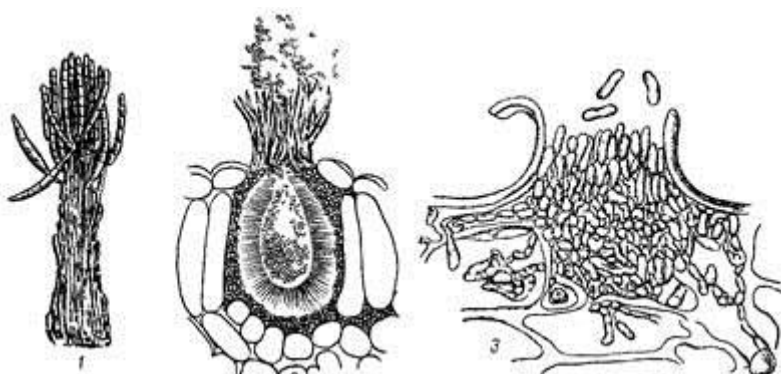


Мал. 12. Хламідоспори і склеротії грибів:
а – хламідоспори; б – склеротії спорині



Мал.13. Органи безстатевого розмноження грибів:

а – оїдії; б – конідієносець (1) із стеригмами (2) і конідіями (3); у – спорангієносець із спорангієм (4) і спорангіоспорами (5)



Мал.14. Типи конідіального спороношення:

1 – коремія; 2 – пікніда; 3 – ложе

У деяких грибів в спорангіях утворюються рухомі спори, що мають джгутиками, - зооспори.

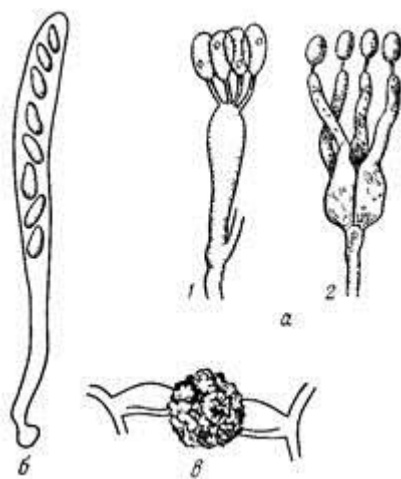
Спорангіоспори і конідії бувають різної форми, розміру і забарвлення, завдяки чому гриби у стадії спороношення мають вид забарвлених нальотів. Доспілі конідії обсіпаються. При дозріванні спорангіоспор спорангії лопаються і з них висипаються спори. Конідії і спорангіоспори пасивно разносяться потоками повітря на великі відстані. Потрапивши в сприятливі умови, спори проростають в гіфи. Спорангієносці, і особливо конідієносці грибів, мають різноманітну будову і зовнішній вигляд, типові для окремих представників.

При статевому розмноженні грибів спороутворенню передують статевий процес – злиття статевих кліток з подальшим об'єднанням їх ядер. В результаті утворюються спеціалізовані органи розмноження. Розвиток цих органів, форми статевих процесу у грибів різноманітні. У грибів з клітинним міцелієм як орган статевих розмноження утворюються базидії з спорами або сумки з спорами.

Базидія є лантухоподібною витягнутою кліткою, на якій є вирости – стеригми (звичайно чотири), на кожному з яких знаходиться по одній спорі. Ці спори називаються базидіоспорами (мал.6, а). Базидії бувають і багатоклітинними (мал. 6а2).

Сумка (аск) має вид циліндричної клітки, усередині якої знаходяться спори (частіше вісім), звані аскоспорами (мал. 6, б). Аскоспори бувають різної форми, безбарвні або забарвлені.

Базидії і сумки іноді розташовуються на міцелії поодинокі, але переважно вони розвиваються групами або шарами в особливих утвореннях з щільно переплетених гіф – плодових тілах. Формою, будовою і забарвленню плодові тіла дуже різноманітні. Такими плодовими тілами є, наприклад, капелюшок з ніжкою білого гриба, сирійжки, опенька і ін. У грибів з неклітинним міцелієм в результаті статевих процесу утворюється одна спора – зігоспора, або ооспора (мал. 6, в).



Мал. 15. Органи статевих спороношення:

a – базидії з базидіоспорами: 1 – одноклітинна базидія; 2 – багатоклітинна базидія; *b* – сумка (аск) з аскоспорами; *y* – зігоспора

При розвитку зігоспори відбувається злиття двох зовні невиразних клітин міцелію, а при розвитку ооспори – злиття двох різних статевих кліток.

Ооспори і зігоспори мають товсту оболонку, містять багато запасних поживних речовин і здатні довго зберігатися в несприятливих умовах.

Більшість грибів можуть розмножуватися безстатевим і статевим шляхом; такі гриби називають досконалыми. Деякі гриби не здатні до статевого розмноження; їх називають недосконалыми. Особливості способів розмноження і будови органів розмноження використовують при розпізнаванні грибів; ці особливості лежать і в основі їх класифікації.

Систематика грибів

Підрозділ грибів на класи заснований на використанні комплексу ознак; ведучими служать будова міцелію, типи статевого і безстатевого розмноження.

Основними класами грибів є хітрідіоміцети, ооміцети, зигоміцети, аскоміцети, базидіоміцети і дейтероміцети (недосконалі гриби). Для кожного класу наведені (як приклади) гриби, псування продуктів, що є поширеними збудниками, або використовувані в промисловості.

Хітрідіоміцети (Chitridiomycetes). Міцелій у них розвинений слабо або відсутній, а тіло є голий протопласт. Розмножуються хітрідіоміцети головним чином нестатевим шляхом за допомогою рухомих спор з одним джгутиком – зооспор, що розвиваються усередині зооспорангіїв.

Багато хітрідіоміцети є внутрішньоклітинними паразитами нижчих і вищих рослин. В уражених органах і клітинах рослин паразит перетворюється на клітину – цисту, що покоїться, з товстою оболонкою. Найважливішим представником цього класу служить гриб сінхітріум.

Сінхітріум (*Synchytrium endobioticum*) – збудник раку бульб картоплі (мал. 7). На уражених бульбах біля очок утворюються темні горбисті нарости (пухлини) різних розмірів, що нагадують губку. У наростах міститься маса зооспор гриба, які звільняються з тканин бульби, що руйнуються, і заражають інші бульби.

Протягом літа це може повторюватися багато раз. Восени в бульбах утворюються цисти, що покояться, які можуть зберігатися в ґрунті багато років. Весною за сприятливих умов вони проростають, утворюючи зооспори, які заражають молоді рослини. Втрати врожаю можуть бути до 40–60 %. Основні заходи боротьби: виведення стійких сортів і знезараження ґрунту.

Ооміцети (Oomycetes). Міцелій у них добре розвинений, неклітинний, багатоядерний. Безстатеве розмноження відбувається за допомогою зооспор, що розвиваються в зооспорангіях, з двома джгутиками. При статевому процесі утворюються ооспори.

Найбільше значення мають фітофтора і плазмодіум. Фітофтора (*Phytophthora infestans*), або картопляний грибок, вражає бульби і бадилля картоплі та й інших пасльонових. На коротких розгалужених спорангієносцях розвиваються яйцевидні або лимоноподібні спорангії. У вологому середовищі в

них утворюється декілька рухомих зооспор, які потім проростають в гіфи. У сухому середовищі зооспори не утворюються, спорангій безпосередньо проростає в гіф. Фітофтора вражає також помідори і баклажани. Плазмопара (*Plasmopara viticola*) – гриб, що викликає хворобу винограду, так звану мільддю. Гриб вражає листя і ягоди. Уражені ягоди буріють, покриваються павутиновим нашаруванням, що складається із спороносців гриба, зморщуються і опадають. Розвитку хвороби сприяє підвищена вологість повітря. Ооспори плазмопари зимують в ґрунті і можуть зберігатися життєздатними протягом декількох років.

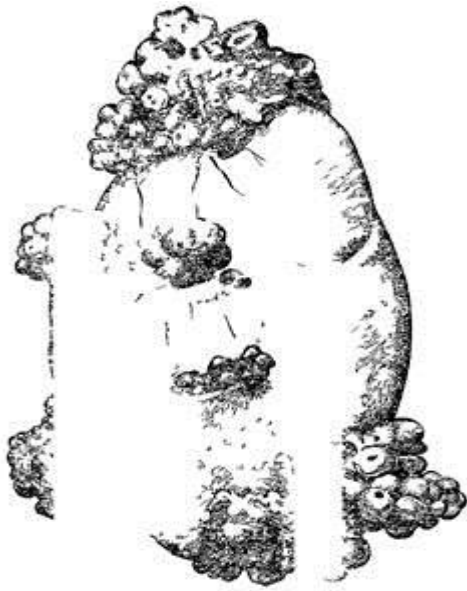
Зигоміцети (*Zygomycetes*). Міцелій у них добре розвинений, неклітинний. Безстатеве розмноження відбувається за допомогою нерухомих спорангіоспор; статеве розмноження – зігоспорами. До цього класу відносять мукові (Mucoraceae) гриби, широко поширені в природі.

Мукові гриби характеризуються різноманітністю будови органів безстатевого спороношення. У деяких (наприклад, у тамнідіум – мал. 8, в) разом з великими багатоспоровими спорангіями є ще маленькі спорангії з невеликим числом спор – спорангіолі. Багато мукових грибів є збудниками псування різних харчових продуктів. Вони розвиваються на продуктах у вигляді пухнастої білої, сірої маси. Найбільше значення з мукових грибів мають мукор і різопус.

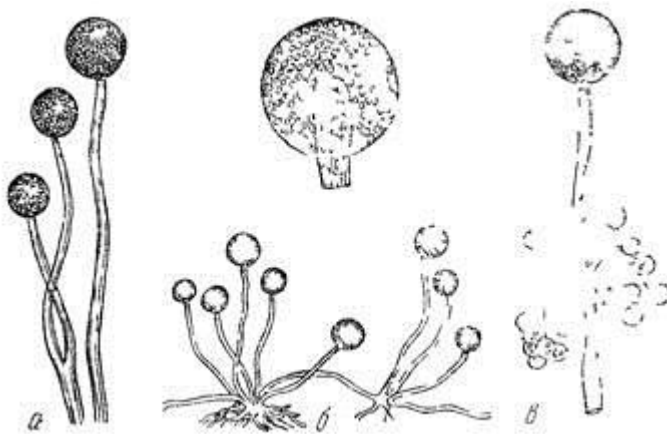
Гриби роду мукор (*Mucor*) мають великі спорангії, що утворюються на одиночних, простих або таких, що гілкуються спорангієносцях (мал. 8, а). Види цього роду відрізняються один від одного формою і забарвленню спорангіоспор, за формою хламідоспор і т.п.

Гриби роду різопус (*Rhizopus*) утворюють забарвлені в темно-бурий колір спорангієносці, які не розгалужуються і ростуть пучками (кущиками). У підґрунтя останніх є кореневидні утворення – ризоїди (мал. 8, б), за допомогою яких гриб прикріплюється до субстрата. Спорангії великі з темнофарбованими спорами у вигляді чорних «головок» на спорангієносцях, за що різопус одержав назву «голівчата цвіль». Різопус розповсюджується по субстрату дуже швидко за допомогою довгих гіфів (столонів), що нагадують вуса суниці. Вражаючи ягоди і овочі, гриб викликає у них «м'яку гнилизну» – повне руйнування тканин.

Деякі мукові гриби мають позитивне значення завдяки здатності продукувати органічні кислоти, ферменти, зброджувати цукор в етиловий спирт. У країнах Сходу їх застосовують разом з дріжджами у виробництві алкогольних напоїв і при виготовленні специфічних продуктів харчування, зброджених з бобів сої.



Мал. 16. Рак картоплі



Мал. 17. Спорангієносці зігоміцетів:

a – *Mucor*; *b* – *Rhizopus*; *c* – *Thamnidium*

Серед мукорових грибів існують збудники захворювань людини і тварин. Деякі з цих грибів є паразитами комах, їх використовують для знищення шкідників сільськогосподарських культур.

Аскоміцети (Ascomycetes). Аскоміцети, або сумчасті гриби, різні по будові і властивостям. Міцелій у більшості добре розвинений, клітинний, але до аскоміцетів відносяться і організми, що не мають міцелію, представлені одиночними клітками, що брунькуються. Всі вони мають, проте, загальне походження і ряд загальних рис в будові.

Безстатеве розмноження міцеліальних аскоміцетів – за допомогою конідій. Конідіальне спороношення різноманітне. Конідієносці утворюються на міцелії поодиночці або групами, утворюючи коремії, пікніди, ложе. При статевому процесі утворюються аскоспори в сумках (асках). Сумки розвиваються у багатьох грибів в плодових тілах різноманітної форми і будови, характерних для окремих представників аскоміцетів. Деякі сумчасті гриби не мають плодових тіл, і сумки у них розвиваються безпосередньо на міцелії. Гриби, створюючи плодові тіла, називають плодосумчастими, а гриби, не утворюючи такі тіла, - голосумчастими.

У деяких сумчастих грибів конідіальне спороношення невідомо, у інших воно переважає в циклі розвитку. У природі (на харчових продуктах) зустрічаються сумчасті гриби тільки у конідіальній стадії; вони мають самостійну назву і розглядаються в класі недосконалих грибів.

Сумчасті гриби широко поширені в природі. Серед них багато паразитів культурних рослин, збудників псування харчових продуктів, є патогенні для тварин і людини види. Деякі використовуються в промисловості як продуценти біологічно активних речовин (ферментів, вітамінів, антибіотиків, алкалоїдів).

Багато голосумчастих грибів мають справжній міцелій. Таким є, наприклад, еремотеціум ешбі (*Eremothecium ashbyi*), який використовують для промислового отримання вітаміну В. У інших голосумчастих грибів міцелій частково розпадається на артроспори. Існують гриби, які є поодинокими клітинами, які брунькуються. Найважливішими представниками неміцеліальних голосумчастих грибів є дріжджі.

У групу плодосумчастих включені деякі види поширених грибів родів аспергіліус і пеніциліум, здатні до сумчастого спороношення. Плодові тіла у них у вигляді дрібних кульок, утворених з щільно переплечених гіф. У середині цих кулястих тіл знаходяться сумки з суперечками (див. мал. 9, в, г). Більшість видів аспергілів і пеніцилів зустрічаються тільки у конідіальній стадії і відносяться до класу недосконалих грибів.

Гриби роду аспергіллюс (*Aspergillus*) мають одноклітинні, нерозгалужені конідієносці. Верхівки конідієносців більш менш роздуті і несуть на своїй поверхні розташовані в один або два яруси стеригми з ланцюжками конідій (мал. 9, а). Конідіїрізного забарвлення (зеленуваті, жовті, коричневі), частіше округлі. Конідієносець на вигляд схожий з дорібною кульбабою.

У грибів роду пеніциліум (*Penicillium*) конідієносці багатоклітинні, такі, що гілкуються. На кінцях розгалужень конідієносця розташовуються стеригми з ланцюжками конідій. Конідії бувають зеленого, блакитного, сіро-зеленого забарвлення або безкольоровими. Верхня частина конідієносця (мал. 9, б) у вигляді пензлика, різного ступеня складності, звідки і назва гриба – пеніциліум.

Аспергілові і пеніцилові гриби є поширеними збудниками псування (пліснявіння) харчових продуктів, промислових виробів і матеріалів. Деякі представники використовуються в промисловості. *Asp. niger*, наприклад, застосовують у виробництві лимонної кислоти; *Asp. oryzae* і *Asp. awamori* використовують для отримання ферментних препаратів.

Окремі види *Penicillium* застосовують у виробництві лікувального препарату Пеніциліну. *Pen. roqueforti* грає важливу роль в дозріванні сиру Рокфору, *Pen. camemberti* – у виробництві сиру Камамбер.



Мал. 18. Конідієносці і плодові тіла (клеїстотеції) грибів:
 а – *Aspergillus*; б – *Penicillium*; в, г – плодові тіла (загальний вигляд і розріз)

Деякі аспергіли викликають захворювання – аспергільози (дихальних шляхів, шкіри, слизової порожнини рота) людини і тварин. Є види, виділяючи отруйні для тварин і людини речовини, – афлатоксини (похідні кумаринів), однією з біологічних дій яких є пухлиноутворення.

Склеротинія (*Sclerotinia*) – поширений і небезпечний збудник білої гнилі плодів і овочів при зберіганні. Міцелій склеротинії пронизує уражений орган, утворюючи на його поверхні білий пластівчастий наліт. Як показує назва, для цих грибів характерний в циклі розвитку утворення склероціїв на міцелії. Конідіальне спороношення відсутнє.

Спориння (*Claviceps purpurea*) – паразит хлібних і кормових злаків. Тверді, схожі на ріжок тіла темно-фіолетового кольору, що утворюються у суцвіттях злаків на місці звичайних зерен, є склероції споринні (див. мал. 9, б). Опалі на землю склероції зимують, весною на них розвиваються плодові тіла, в яких знаходяться сумки з суперечками. Дозрілі аскоспори висипаються з плодового тіла і переносяться вітром на квіти злаків, де проростають у міцелій, який спороносить. Склероції містять алкалоїди – речовини, токсичні для людини і тварин. У минулому захворювання ерготизм, що виникало у зв'язку із споживанням продуктів із зерна, зараженого спориннею, було нерідким і дуже важким. Підвищення культури землеробства різко понизило враження посівів цим грибом.

До плодосумчастих грибів відносяться також гриби трюфелі і сморчки, плодові тіла яких вживають в їжу, а також строчки, що вважаються умовно їстівними, тому що деякі їх види отруйні. Трюфелі утворюють підземні, клубенеподібні плодові тіла м'якстої або хрящуватої консистенції темного кольору, що досягають розміру бульб картоплі. Плодові тіла сморчків великі, м'яксті, складаються з ніжки і капелюшка, з складчастою бурюю поверхнею, де шарами розташовуються сумки з спорами.

Базидіоміцети (Basidiomycetes). Це вищі гриби з клітинним міцелієм, у деяких міцелій багаторічний. Безстатеве розмноження (конідіями) спостерігається рідко. Органами статевого розмноження служать «базидії» з базидіоспорами. У одних грибів базидії одноклітинні, у інших – багатоклітинні (див. мал. 6, 1, 2). Одноклітинні базидії циліндричної або булавоподібної форми несуть на чотирьох коротких виростах (стеригмах) по одній базидіоспорі. Багатоклітинні базидії складаються з чотирьох клітин, на яких знаходиться по

одній базидіоспорі на стеригмі. Базидії з базидіоспорами можуть розвиватися безпосередньо на міцелії, але у багатьох базидіоміцетів є плодові тіла.

Базидіальні гриби з одноклітинними базидіями широко розповсюджені в природі. Більшість їх живе в ґрунті, на рослинних залишках, деякі – на деревах. Базидії з базидіоспорами у більшості розвиваються шарами на плодових тілах або усередині них. Будова, форма і консистенція плодових тіл різноманітні і характерні для різних видів грибів. До складу цієї групи базидіоміцетів входять капелюшні і трутові гриби.

Капелюшні гриби мають однорічне м'ясисте плодове тіло, що складається з капелюшка і ніжки. Нижня поверхня капелюшка складається з пластинок (наприклад, у сирійки, опенька), що радіально розходяться, або з численних трубочок (у білого гриба, підберезника і ін.). На бічних поверхнях пластинок і на внутрішніх стінках трубочок знаходяться базидії з спорами. Багато капелюшних грибів їстівні. Те, що звичайно називають грибами і вживають в їжу, - це і є плодові тіла; грибниця живе в ґрунті. Деякі капелюшні гриби отруйні.

в Україні і в інших країнах розвинене промислове культивування їстівних грибів шампінйонів. У деяких країнах (Китай, Японія) вирощують і інші пластинчасті гриби. В даний час все більшого поширення набуває спосіб вирощування грибного міцелію серед фермерів. Цей спосіб дозволяє швидко накопичувати значну кількість міцелію, який за хімічним складом і смаковим якість мало відрізняється від плодових тіл відповідного гриба.

Трутові гриби – руйнівники деревини. Міцелій живе в живій деревині (у стовбурах і корінні дерев) або мертвій (заготтвельній, обробленій в спорудах), руйнуючи її. Плодові тіла утворюються на поверхні ураженої деревини. У більшості грибів вони багаторічні, різноманітні за формою, величиною, консистенції і забарвленню. Плодові тіла бувають пухкими, щільними, дерев'янистими, у вигляді скориночок, копитоподібними:

Багато трутових грибів відомі під назвою домовики. Вони вражають дерев'яні частини будівель, складських приміщень, виявляються у винних підвалах на дерев'яних полицях, бочках і інших предметах. Найбільш шкідливим з них є справжній будинковий гриб (*Serpula lacrymans*), який в природі не виявляється і зустрічається тільки в спорудах. На уражених предметах утворюється бавовноподібне скупчення міцелію з жовтуватими (або рожевими) плівками. Плодове тіло м'ясисте-плівчасте. Деревина розм'якшується і згниває. При підвищеній вологості повітря гриб розповсюджується дуже швидко, чому сприяє розвиток тяжів із зрощених гіф завдовжки до декількох метрів. Будинкові гриби завдають великого економічного збитку народному господарству.

До базидіальних грибів з багатоклітинними базидіями відносять багато паразитичних грибів, з яких деякі вражають польові, городні і садові рослини. Більшість цих грибів не мають плодових тіл. Найважливішими представниками є головневі і іржавинні гриби.

Головневі гриби – паразити квіткових рослин. Найбільш шкідливі гриби, що вражають зернові культури і що викликають хворобу, звану головешкою. Головневі гриби можуть заражати рослину у всі періоди його розвитку. Особливо сильно розростається міцелій в тканинах квіткових органів (мітелки

або колоса), при цьому міцелій перетворюється на масу темних спор, що порошить, – хламідоспор (званих теліоспорами). Уражені грибом органи рослин здаються такими, що обвуглилися, обгорілими, звідси і назва грибів і хвороби рослин. Хламідоспори мають щільну оболонку і стійкі до несприятливих дій. У ґрунті вони можуть зберігатися життєздатними протягом декількох років і служити джерелом інфекції.

Іржавинні гриби – широко поширені паразити багатьох вищих рослин, у тому числі і злаків. Ці гриби відрізняються складним циклом розвитку – різноманітністю форм спороношення, що чергуються в певній послідовності. Деякі гриби весь цикл розвитку проходять на одній рослині (наприклад, іржа соняшнику), інші – на двох рослинах (хлібна іржа). Свою назву іржавинні гриби одержали у зв'язку з появою іржавих плям або смуг на уражених ними частинах рослин. Колір плям обумовлений наявністю у міцелії і спорах цих грибів крапель олії оранжевого забарвлення. Ураження злакових рослин іржею приводить до їх недорозвинення, затримці утворення колосів і, таким чином, до загибелі урожаю.

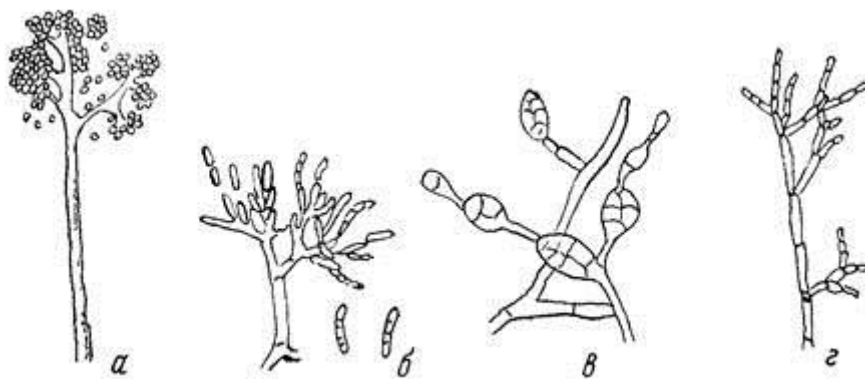
Головневі і іржавинні гриби завдають великого збитку сільському господарству.

Дейтероміцети, або недосконалі гриби (Deuteromycetes). Це гриби з клітинним міцелієм, у яких не виявлено статевого розмноження. Більшість їх розмножується конідіями. Конідієносці у різних видів мають різний зовнішній вигляд, розташовуються поодинокі або групами. Деякі гриби утворюють оїдії (артроспори), є форми і без спеціальних органів розмноження. Конідії різноманітні за формою, будові, забарвленню; вони можуть бути одноклітинними і багатоклітинними.

Недосконалі гриби широко поширені в природі; багато хто є активними збудниками псування харчових продуктів. Деякі паразитують на культурних рослинах, є види, що викликають шкірні захворювання (дерматомікози) у людей.

Найбільш поширеними і небезпечними збудниками псування продуктів є наступні гриби.

Фузаріум (*Fusarium*) має два типи конідій: макроконідії – серповидно-зігнуті багатоклітинні, які розвиваються на коротких розгалужених конідієносцях (мал. 16, *би*) і мікроконідії – дрібніші еліптичні або округлі одноклітинні (або з однією-двома перетинками). Міцелій цих грибів білий, біло-рожевий, жовтуватий. Фузаріуми викликають захворювання різних овочів і плодів, відомі під загальною назвою фузаріозів. Деякі види *Fusarium* вражають бульби картоплі (див. с. 238). Є види, утворюючі отруйні для людини речовини



Мал. 19. Конідієносці недосконалих грибів:

a – Botrytis; *б* – Fusarium; *в* – Alternaria; *z* – Cladosporium

Ботрітіс (Botrytis) має деревовидно розгалужені конідієносці, що несуть на кінцях гілок зібрані в головки одноклітинні димчастого кольору конідії (мал. 16, з). Цей гриб вражає яблука, груші, багато овочів, і особливо ягоди. При цьому поверхня їх покривається пухнастим сірим нальотом, тканини стають водянистими, буріють, розм'якшуються.

Ботрітіс разом з іншими грибами викликає кагатну гнилизну цукрового буряка.

Альтернарія (Alternaria) характеризується наявністю багатоклітинних темнозбарвлених конідій булавоподібний витягнутої форми, що сидять ланцюжками або на одиночних слаборозвинених конідієносцях (мал. 10, в).

Різні види Alternaria широко поширені в ґрунті і на рослинних залишках. Гриб викликає захворювання багатьох сільськогосподарських рослин, яке називають альтернаріозом. Розвиваючись на харчових продуктах, альтернарія утворює на них чорні плями, що втиснуті у товщу враженого плода.

Оїдіум (Oidium) утворює розгалужений білий міцелій, гіфи якого легко розпадаються на оїдії (див. мал. 10, а).

Один з видів цього роду – Oidium lactis (geotrichum candidum) – молочна цвіль, часто розвивається у вигляді бархатистої плівки на поверхні квашених овочів і кисломолочних продуктів при їх зберіганні. Гриб використовує молочну кислоту, що знаходиться в цих продуктах, що приводить до їх псування. У молочних продуктах оїдіум розкладає білки, жири. Ця цвіль зустрічається також на пресованих дріжджах, вершковому маслі, сири і інших продуктах.

Монілія (Monilia) – гриб, що не має конідієносців. Конідії, сполучені в прості або такі, що гілкуються ланцюжки, розташовуються на коротких відростках міцелію. Ці гриби є активними збудниками псування плодів.

Фома (Phoma) має короткі конідієносці з безбарвними одноклітинними конідіями різноманітної форми. Серед грибів багато паразитів рослин, а також збудників псування – фомозу овочів при зберіганні.

Кладоспоріум (Cladosporium) має конідієносці, які слабо розгалуджені, що несуть на кінцях ланцюжка конідій (мал. 10, г). Конідії бувають різноманітної форми (округлої, овальної, циліндрової і ін.) і розмірів, нерідко двохклітинними. Міцелій, конідієносці і конідії забарвлені в оливково-зелений колір. Ці гриби характерні тим, що виділяють в середу темний пігмент. Кладоспоріум нерідко виявляється при холодильному зберіганні на різних

Lecture

харчових продуктах у вигляді бархатистих темно-оливкових (до чорного кольору) плям.

2.3 Дріжджі, дріжджевидні організми, як представники мікроскопічних грибів

Дріжджі є одноклітинними нерухомими організмами, широко поширеними в природі; вони зустрічаються в ґрунті, на рослинах, в різноманітних субстратах, що містять цукор.

Широке використання дріжджів в промисловості зобумовлено їх здатністю викликати спиртне бродіння – перетворення цукру в етиловий спирт і вуглекислий газ. З іншого боку, розвиток дріжджів в харчових продуктах викликає їх псування (спучення, зміна запаху і смаку).

Форма клітин дріжджів частіше округла, овально-яйцевидна або еліптична, рідше циліндрова і лимоноподібна (мал. 11). Зустрічаються дріжджі особливої форми – серповидні, стрілоподібні, трикутні. Розміри дріжджових кліток звичайно не перевищують 10-15 мкм.

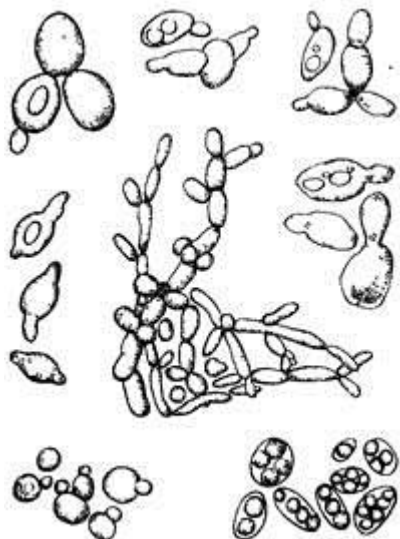
Форма і розміри дріжджів можуть помітно змінюватися залежно від умов розвитку, а також від віку клітин.

Дріжджі відносяться до еукаріотних організмів; будова їх клітини схожа з будовою клітини грибів. Дріжджі мають дійсне ядро, відмежоване від цитоплазми ядерною двошаровою мембраною, ендоплазматичну мережу, апарат Гольджі, лізосоми, мітохондрії, рибосоми, вакуолі. Як запасні поживні речовини в клітинах виявляють крапельки жиру, гранули глікогену, волютину.

Клітинна стінка (оболонка) дріжджів багатшарова, до складу її у більшості дріжджів входять в основному (до 60 – 70% сухої маси) геміцелюлози і в невеликих кількостях – білки, ліпіди, хітин. У деяких дріжджів оболонка може в тому або іншому ступені ослизнюватися, внаслідок чого клітки склеюються одна з одною і при розвитку в рідких середовищах утворюють осідаючі на дно судини пластівці (пивні дріжджі). Такі дріжджі називають пластівчастими на відміну від пілоподібних, клітинні стінки яких не ослизнюються; пілоподібні дріжджі в рідині знаходяться в зваженому стані (спиртові дріжджі).

Розмноження дріжджів. Найбільш характерним і широко поширеним у дріжджів вегетативним способом розмноження є брунькування, лише небагато дріжджів розмножуються діленням.

Процес брунькування полягає в тому, що на клітині з'являється горбик (іноді їх декілька), який поступово збільшується в розмірах, Цей горбик називають брунькою. Брунькуванню передують розділення ядра на дві частини, і одне разом з частиною цитоплазми і іншими клітинними елементами переходить в молодшу клітку, що формується. По мірі зростання бруньки в місці з'єднання її з материнською клітиною утворюється перетяжка, що відмежовує молодшу дочірню клітину, яка потім або відмежовується (відділяється) від материнської клітини, або залишається на ній. За сприятливих умов цей процес триває близько двох годин.



Мал. 20. Дріжджі

Клітини, що брунькуються, звичайно утворюють не одну, а декілька бруньок. Разом з цим може початися брунькування і молодих кліток. Так поступово утворюються скупчення з багатьох об'єднаних між собою клітин, які називають зростками брунькування.

В деяких випадках, особливо на поверхні рідких середовищ, де клітини дріжджів завжди більш витягнуті, такі зростки брунькування утворюють тонку плівку, що легко руйнується при збовтуванні рідини. Існують дріжджі, які утворюють більш менш товсті зморшкуваті плівки, що міцно утримуються при збовтуванні. Такі плівчасті дріжджі нерідко викликають псування квашених овочів, вина, пива.

Крім брунькування, багато дріжджів розмножуються за допомогою спор. Утворення спор у дріжджів може відбуватися безстатевим і статевим шляхами. При безстатевому утворенні спор ядро клітки ділиться на стільки частин, скільки утворюється спор у даного виду дріжджів, після чого поступово в клітині (як в сумці) утворюються аскоспори. Утворенню спор статевим шляхом передують злиття (копуляція) кліток. У деяких дріжджів копулюють проростаючі спори. Число спор в клітині різних видів дріжджів різне. Їх може бути дві, чотири, а іноді вісім і навіть дванадцять.

Спори більшості дріжджів округлі або овальні, але у деяких голкоподібні, пляшкоподібні. У багатьох на поверхні спор є утворення типу виростів, бородавок. Спори дріжджів до несприятливих умов стійкіші ніж вегетативні клітини, але менш стійкі ніж бактеріальні спори.

За сприятливих умов спори проростають у вегетативні клітини. У багатьох так званих культурних дріжджів, тобто культивованих людиною з виробничо-господарською метою, здатність до спороутворення в значній мірі ослаблена, а іноді повністю втрачена.

Дріжджі, як зазначалося раніше, відносять до класу сумчастих грибів (Ascomycetes), до підкласу голосумчастих. Підрозділ голосумчастих грибів на

Lecture

порядки, сімейства, роди заснований на особливостях їх розмноження, фізіологічних, біохімічних і морфологічних ознак.

Найбільший інтерес представляє рід сахароміцес (*Saccharomyces*), який об'єднує як природні (дикі) види, так і культурні, що використовують в промисловості. Окремі види розрізняються здатністю зброджувати ті або інші вуглеводи, інтенсивністю бродіння, кількістю утворюваного спирту, оптимальними температурами брунькування і утворення спор і т.д.

У промисловості найширше використовують кілька видів дріжджів роду сахароміцес церевізія, сахароміцес карлсбергенсіс і сахароміцес еліпсоїдеус.

Сахароміцес церевізія (*Sacch. cerevisiae*) – дріжджі округлої або овальної форми. Застосовують їх у виробництві етилового спирту, квасоварінні і хлібопеченні. Сахароміцес карлсбергенсіс в пивоварінні. Кожне виробництво застосовує свої специфічні раси (різновиди) даного виду дріжджів.

Сахароміцес еліпсоїдеус (*Sacch. ellipsoideus* – *S. vini*) – дріжджі еліптичної форми. Їх використовують переважно у виноробстві. Цей вид дріжджів також представлений багатьма расами.

Ці і деякі інші види роду *Saccharomyces* при спонтанному – мимовільному розвитку в харчових продуктах, що містять цукор викликають їх псування – заброжування, прокисання.

Крім спороутворюючих існують дріжджі, не здатні до спороутворення, - аспорогенні. Нерідко їх називають дріжджоподібними або недосконалыми дріжджовими організмами. По старій класифікації їх відносять до помилкових дріжджів у протилежність дійсним (спороутворюючим) дріжджам.

З аспорогенних дріжджів найбільше значення мають роди Кандида (*Candida*) і Торуюльопсіс (*Torulopsis*). Торуюльопсіс має клітки круглої або овальної форми. Численні представники їх широко розповсюджені в природі; більшість не здатна до спиртного бродіння, багато хто викликає псування харчових продуктів.

Кандида – дріжджі, клітки яких мають витягнуту форму; вони здатні до утворення примітивного міцелію (псевдоміцелій). Багато хто з них не здатний до спиртового бродіння. Деякі види (наприклад, *C. mycoderma*), що окислюють цукор і етиловий спирт в органічні кислоти або у вуглекислий газ і воду, є шкідниками у виробництвах вин, пива, пекарських дріжджів. Ці дріжджі викликають також псування квашених овочів, безалкогольних напоїв і багатьох інших продуктів.

Є види, що викликають захворювання кандидози у людей, при цьому вражаються слизов оболонки рота і інших органів.

Деякі види Кандида використовують у виробництві кормових дріжджів для потреб тваринництва і птахівництва. Дріжджування кормів – це збагачення їх білком і вітамінами при порівняно невеликих витратах. Кормові дріжджі вирощують на дешевих і доступних субстратах – відходах промислових виробництв (головним чином спиртних заводів), а також на гідролізатах сільськогосподарських відходів. Деякі види ростуть на вуглеводнях нафти, утворюючи біомасу, яка багата білками, що містять всі необхідні для тварин амінокислоти. Об'єм виробництва кормових дріжджів збільшується з кожним роком.

Lecture

Серед аспорогенних дріжджів є забарвлені в жовтий, рожевий, червоний кольори, обумовлені наявністю в клітинах пігментів каротиноїдів. В даний час деякі з цих дріжджів (види роду родоторула – *Rhodotorula*) використовують для отримання кормових білково-каротиноїдних препаратів, які є джерелом вітаміну А для тварин.

2.3. Віруси і фаги, їх місце серед мікроорганізмів.

Надзвичайно важливим серед досягнень мікробіології останньої чверті XIX ст. є відкриття неклітинних форм життя – вірусів. Тоді багато вчених вважали, що бактерії є найменшими і найпростішими організмами, і що саме вони стоять на межі живої і неживої природи.

Відкриття невидимого в оптичний мікроскоп ультрамікроба по суті заклало фундамент нової науки – вірусології. В подальшому протягом 25 років було відкрито віруси, що уражають усіх представників царства природи: рослин тварин людей та мікроорганізми. Проте протягом багатьох років віруси не привертати до себе особливої уваги.

Лише після того, як стало відомо, що грип (на нього перехворіли в 1918 році близько 500 млн. чоловік з них 20 млн. померли «іспанка») – вірусне захворювання, а також встановлено, що віспа, кір, поліомієліт зумовлюються вірусною інфекцією, значні зусилля було спрямовано на вивчення цих ультра мікроорганізмів.

Специфічність вірусів є у тому, що вони є особливою групою неклітинних форм життя, яким властивий строгий паразитизм на молекулярному, а часто й на молекулярно-генетичному рівні.

«Віруси – це об'єкти, геном яких є нуклеїнова кислота (ДНК або РНК). Ця нуклеїнова кислота репродукується в живих клітинах і, використовуючи їх апарат синтезу, спонукає клітини синтезувати спеціалізовані частинки, або віріони, що містять геном вірусу і можуть передавати його в інші клітини» (С.Лурія, Дж. Дарнелл, 1970) Це визначення наголошує на двох основних властивостях вірусів – наявності у них власного генетичного матеріалу, що поводить себе в клітині хазяїна як частина цієї клітини, та наявності неклітинної інфекційної фази існування вірусів у вигляді спеціалізованих частинок, або віріонів, що репродукуються в клітині під генетичним контролем вірусу, і є придатним для введення геному вірусу в інші клітини хазяїна.

За К. С. Суховим (1965), віруси характеризуються такими основними ознаками: 1) дуже малими розмірами тіла (вимірюються нанометрами); 2) відсутністю клітинної будови; 3) відносно простим хімічним складом (найпростіші віруси складаються з білка і нуклеїнової кислоти); 4) нездатністю до культивування в штучних синтетичних середовищах; 5) особливим циклом розвитку в організмі сприятливого хазяїна або частиною цього циклу в без клітинному середовищі, яке включає деякі органоїди клітини і речовини,

необхідні для синтезу нуклеїнових кислот і білків; 6) здатністю деяких з них кристалізуватися за певних умов довкілля. Lecture 3

Унікальна особливість вірусів – різноманітність організації їхнього генетичного матеріалу. Аналізуючи сучасні досягнення вірусологічної науки, російські вчені В.М.Жданов, С.Я.Гайдамович, Т.І. Тихоненко, А.П.Биковський доходять висновку, Що віруси є автономними генетичними структурами, уламками життя, фрагментами живих систем, які не здатні до самостійного існування поза повноцінними організмами або клітинами, чи то, нарешті, субклітинними структурами. Як автономні генетичні структури віруси пеною мірою мають або, вірніше, зберігають основні атрибути життя, включаючи такий кардинальний атрибут, як здатність до еволюції.

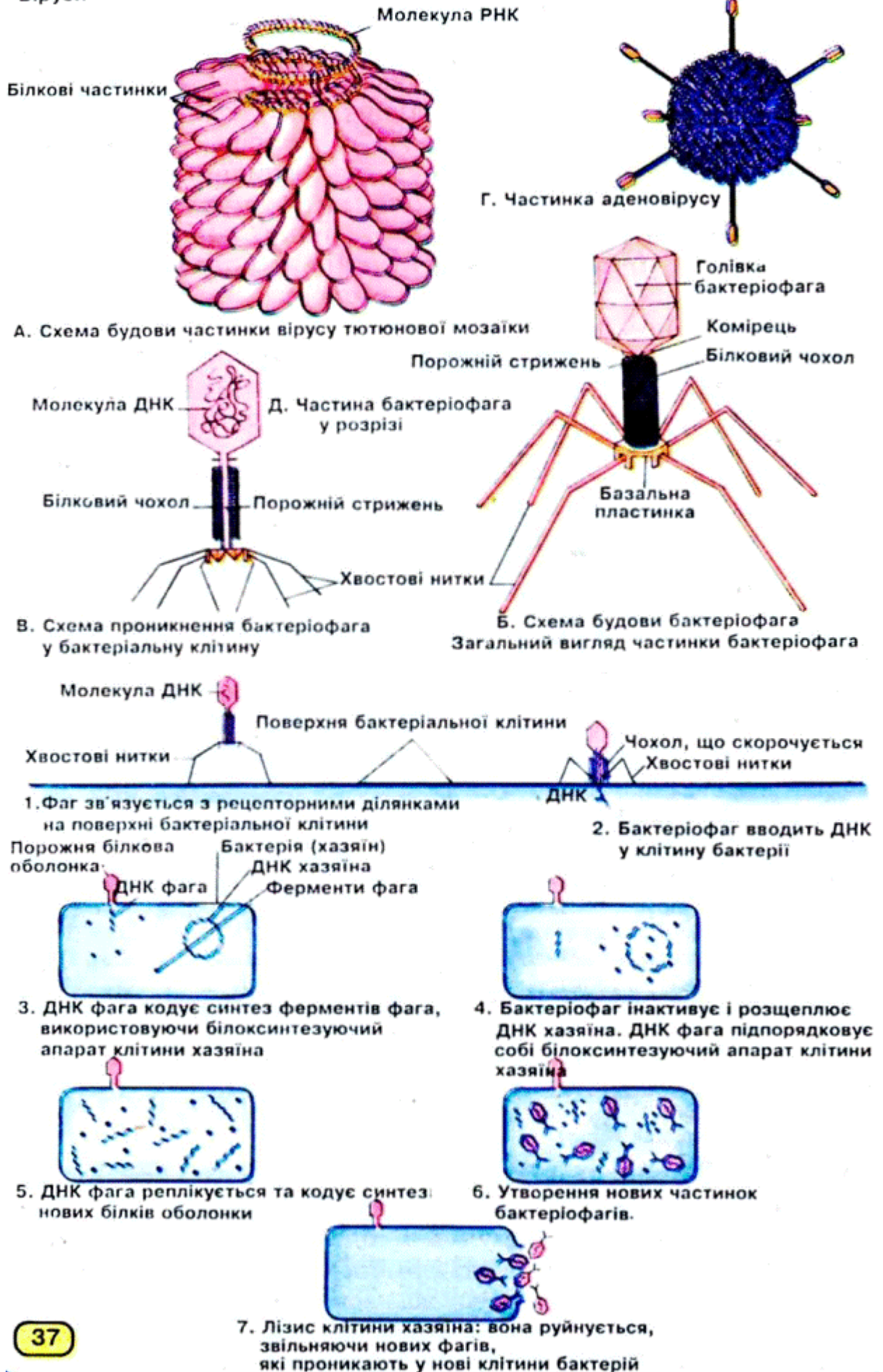
Розміри різних вірусів коливаються від 8 до 750 нм.

Результати електронно-мікроскопічних досліджень показали, що за формою віруси поділяються на такі групи: паличковидні, ниткоподібні,

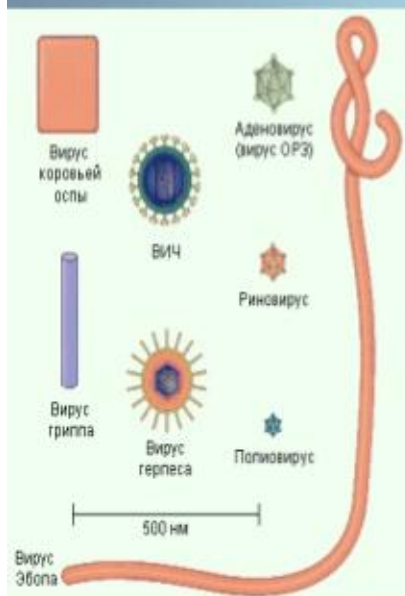
Результати електронно-мікроскопічних досліджень показали, що за формою віруси поділяються на такі групи: паличковидні, ниткоподібні, сферичні, кубоїдальні, булавовидні (бактеріофаги).

Нижче подано зображення вірусів – збудників хвороб людини. Мал. 21,22





ВІРУСИ



Носії доклітинної форми життя, розмножуються лише тоді, коли проникають у клітини чужого організму й живуть за їхній рахунок

Викликають захворювання:

грип
паротит
герпес
віспу
сказ
кір
СНІД

Питання для самоконтролю.

1. Назвіть основні форми бактерій та їх розміри.
2. Охарактеризуйте функції органел бактеріальної клітини.
3. Назвіть стадії розмноження бактерій.
4. Назвіть умови та стадії спороутворення у бактерій.
5. Назвіть особливості будови мікроскопічних грибів.
6. Охарактеризуйте дріжджі, як преставники сумчастих грибів, їх будова, особливості використання їх в промисловості.
7. Особливості будови вірусів та їх місце серед мікроорганізмів.

ТЕМА 3. ВПЛИВ ФАКТОРІВ ЗОВНІШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА НА МІКРООРГАНІЗМИ

План

1. Фізичні фактори.
2. Хімічні фактори.
3. Біологічні фактори.

3.1. Фізичні фактори.

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

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

Вплив вологи. Активна життєдіяльність мікроорганізмів можлива лише в умовах достатнього зволоження. Надходження поживних речовин у клітину та виділення продуктів обміну речовин в зовнішнє середовище можливі тільки при достатньому вмісті води. Вода входить до складу клітин мікроорганізмів (до 85%) та підтримує тургорний тиск в них. Крім того багато поживних речовин можуть проникати всередину клітини тільки в розчиненому стані, і в розчиненому стані видаляються продукти обміну речовин з клітин. Всі хімічні перетворення, що відбуваються всередині клітини, вимагають також водного середовища. Тому зневоднення середовища та клітин мікроорганізмів призводить до затримки їх розвитку, вони стають бездіяльними, хоча і можуть залишатися живими. При збільшенні вологості життєдіяльність мікроорганізмів відновлюється.

Мікроорганізми в залежності від їх відношення до вологості середовища діляться на гідрофіти (вологолюбиві), мезофіти (середньвологолюбиві) та ксерофіти (сухолобові). Більшість бактерій та дріжджів відносяться до гідрофітів, багато міцеліальних грибів – мезофіти, але серед них зустрічаються також і гідрофіти та ксерофіти. Для бактерій мінімальна вологість субстрату, в якому вони здатні розмножуватися, становить 20-13%.

Для розвитку мікроорганізмів важлива не абсолютна величина (загальний вміст води в середовищі), а її доступність. Хімічно зв'язана вода, наприклад в колоїдах клітини (білки, полісахариди та інші), не доступна для мікроорганізмів,

Lecture

так як вона не може служити розчинником поживних речовин. Мікроорганізми розвиваються лише за умови вмісті вільної доступної води (активної).

Існують різні шляхи зниження активності води з метою збереження харчових продуктів від мікробного псування: висушування, в'ялення, додавання в продукт різних розчинних речовин (цукор, сіль), а також заморожування.

Висушують та в'ялять овочі, фрукти, м'ясо, рибу, ароматичні трави. В сухому вигляді зберігають борошно, крупи, молоко та інше. При зберіганні таких продуктів необхідно зберігати як температуру так і вологість. Мікроорганізми також можна зберігати в висушеному стані, наприклад молочнокислі бактерії можуть зберігати свою життєдіяльність десятки років. До двох років зберігають свою життєдіяльність висушені дріжджі. Особливо добре зберігають свою життєдіяльність спороутворюючі бактерії - бацили. Для зберігання музейних мікробів культуру мікроорганізмів піддають заморозуванню в умовах вакууму (ліофілізація)

Осмотичний тиск. Важливе значення для життя мікроорганізмів має осмотичний тиск, величина якого визначається концентрацією розчинних речовин в середовищі. Цитоплазматична мембрана регулює проникнення в мікробну клітину і вихід з неї води та розчинних речовин, зберігаючи при цьому осмотичну рівновагу. Надходження води з довкілля у клітину можливе лише в тому випадку, коли осмотичний тиск в клітині буде більшим, ніж тиск зовнішнього розчину. При високому осмотичному тиску в середовищі клітина втрачає здатність поглинати з нього воду, що згубно діє на неї. Нормальний осмотичний тиск у клітині визначається в межах від 3 до 7 атм.

Мікроорганізми, які добре розвиваються при нормальному тиску, дістали назву осмоотолерантних. Мікроби, що краще розвиваються при підвищеному осмотичному тиску, називаються осмофільними. Є також група бактерій, які потребують для свого росту і розвитку високої концентрації солей. Вони краще ростуть при концентрації солі в середовищі в межах 20-30 %. Ці прокаріоти дістали назву Галофілів. Своєю чергою серед них розрізняють помірних і екстремальних галофітів.

Осмотичний тиск всередині клітини мікроорганізма дещо вище ніж назовні. Це є умовою нормальної життєдіяльності мікроорганізма. Підтримка клітинами оптимального для життєдіяльності даного мікроорганізма осмотичного тиску відбувається завдяки їх здатності до осморегуляції. В результаті осморегуляції зберігається його життєдіяльність, навіть якщо осмотичний тиск в зовнішньому середовищі змінюється в відносно великих межах.

Функцію осморегуляції здійснює механізм активного транспорту речовин. Коли клітина потрапляє в середовище з низькою концентрацією розчинних речовин (дистильована вода) в її клітинах спостерігається явище плазмолізу (надмірне насичення цитоплазми водою), що може призвести до розриву ЦПМ₃

та клітинної стінки і організм гине. Коли клітина мікроорганізма потрапляє в субстрат з концентрацією речовин більшою оптимального значення в її клітині настає плазмоліз (зневоднення цитоплазми), її об'єм зменшується, що веде за собою пошкодження ЦПМ. При цьому в клітинах призупиняється обмін речовин, вони передодять в стан анабіозу, в якому деякі можуть тривалий час перебувати, не втрачаючи життєздатності, а інші гинуть. На цьому базуються деякі способи зберігання різних продуктів за допомогою концентрованих розчинів солі та цукру.

Використання концентрованих розчинів цукру та солі для збереження ігід, плодів, фруктів, мяса, риби фактично є процесом сушкипродукта завдяки осмосу, так як продукти занурюють в розчини цукру чи солі де активність води менша за її активність в харчових продуктах. При цьому виникає два протитокі: з розчину в продукт дифундують розчинні речовини (сіль цукор), а з продукта в розчин вода. В продуктах відбувається зниження активності води, що робить середовище непридатним для розвитку мікроорганізмів та попереджує їх псування.

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

Таблиця 2.

Температурні зони для видів мікроорганізмів

Мікроорганізми	Кардинальні точки, °С		
	Мінімум	Оптимум	Максимум
Бактерії			
Bacillus subtilis	5-8	30-45	55-60
Streptococcus lactic	8-10	30-35	40-45
Lactobacillus bulgaricus	20	40-42	50
Acetobacter aceti	4	34	42
Escherichia coli	10	37	50
Mycobacterium tuberculosis	29	37	41
Цвілі (плісняві гриби)			
Aspergillus niger	7-10	33-37	40-43

Mucor recemosus	4	22-25	33	Lecture
Saccharomyces cerevisiae	0,5-5	20-30	40-50	
Penicillium huberulum	1-5	24-25	30-32	

Щодо температурних умов, усі мікроорганізми прийнято поділяти на три групи: психрофіли, мезофіли, термофіли. Психрофіли — холодолюбні мікроби. Мінімальні температури для них — у межах від -10 до 0 °C, оптимальні — від 10 до 15 °C і максимальні — близько 30 °C. Психрофіли живуть у ґрунтах полярних країн, холодних морях і океанах, льодах, на заморожених продуктах тощо.

Мезофіли — мікроорганізми, мінімальні температури для яких перебувають у межах від 5 до 10 °C, оптимальні — близько 25—35 °C, максимальні — 45—50 °C. До них належать більшість сапрофітних і патогенних мікроорганізмів, наприклад, кишкова паличка, протей, стафілокок та інші. Мезофіли найбільш широко розповсюджені мікроорганізми, вони перебувають і в водоймах, і в повітрі, в ґрунті в живих істотах. Збудники псування харчових продуктів, харчових отруєнь та захворювань в основному мезофіли.

Термофіли — група теплолюбних мікробів, які можуть розвиватися при відносно високих температурах. Оптимальна температура їх розвитку 50-60°C, максимальна — 70-80°C, мінімальна — 30°C. Природа термофілії досі ще не розкрита. Висловлюються припущення, що ліпіди відіграють певну роль у молекулярних механізмах термофілії, сприяючи термостабільності мембран, і що нижня температурна межа росту термофілів визначається температурою плавлення мембранних ліпідів. За іншою гіпотезою, визначальна роль у термофілії належить ферментним білкам, а саме: основні температурні точки термофілів залежать від конформації одного або декількох основних ферментів. Деякі вчені поділяють твердження, згідно з яким термофілія зумовлюється термостабільністю структурних компонентів клітин термофілів. Термофіли досить широко розповсюджені в природі. Вони живуть в гарячих джерелах, в ґрунтах та водоймах спекотного континенту, в пісках пустель, в шлунково-кишковому тракті тварин та людини, так як більшість термофілів здатні утворювати стійкі спори.

Зниження температури нижче оптимальної не так згубно впливає на прокаріотів, як її підвищення понад максимальну. Підвищення температури понад максимальну призводить до загибелі клітини. Велике значення має не лише ступінь нагрівання його тривалість та вид мікроорганізмів, але й хімічний склад субстрату (поживного середовища), рН тощо.

Неспороносні бактерії гинуть у вологих субстратах при температурі 60-70°C протягом 15-30 хвилин, при 80-100°C — через 0,5-3 хвилини. Дріжджі та міцеліальні гриби гинуть вже за температури 50-60°C. Найбільш термостійкими є бактерії, а з них бацили. У вологому середовищі вони гинуть за температури 120-130°C, через 20-30 хвилин, в сухому стані при 160-170°C через 1-2 години. Термостійкість спор різних бактерій неоднакова, найбільш стійкі спори термофільних бактерій.

На явищі впливу високих температур ґрунтуються поширені способи знезараження продовольчих продуктів, поживних середовищ, посуду та інструментів. Вони дістали назву пастеризації і стерилізації.

Пастеризація це процес знищення вегетативних клітин мікроорганізмів шляхом нагрівання їх до температури 50-60°C протягом 15-20 хвилин, або до 70-80°C протягом 5-10 хвилин. При пастеризації спори бактерій а також деякі термофільні бактерії не гинуть. Так як в процесі пастеризації спостерігають мінімальні зміни органоліптичних показників та максимально зберігаються ферменти та інші біологічні складові продуктів її використовують для зберігання молока, вина, пива, ікри осетрових риб, фруктових соків.

Стерилізацією називають процес повного знищення мікроорганізмів, в тому числі і споро утворюючих, під дією високих температур. Стерилізація буває двох видів – волога та суха. Вологу здійснюють нагрітою парою під тиском 0,05-0,1 МПа в спеціальних приборах – автоклавах при температурі 112-120°C, на протязі 20-60 хвилин, а суха – в сушильних шафах гарячим повітрям за температури 160-170°C на протязі 1,5-2 години. Процес стерилізації використовують у консервному виробництві, медицині та в мікробіологічних лабораторіях при приготуванні поживного середовища, стерилізації посуду та інструментів.

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

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

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

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

Лекція
Іонізуюче випромінювання на мікроорганізми може діяти згубно (бактерицидна дія) або викликати мутагенний ефект. Ефективність дії іонізуючої радіації залежить від виду, дози і об'єкту опромінення. Наприклад, прокаріоти набагато витриваліші до дії ядерних випромінювань, ніж вищі організми. Тіонові бактерії, які живуть у покладах уранових руд, мають високу стійкість до радіації. Бактерії знаходили у воді атомних реакторів, де концентрація іонізуючої радіації перевищувала 20-30 тис. Гр (2—3 млн рад).

Щодо механізму дії радіації на живі організми, то вважають, що вона виявляє пряму і непряму дію. Пряма дія полягає в радіаційно-хімічних перетвореннях молекул у місці поглинання радіоактивних променів. Вплив останніх спричинює набуття молекулою збудженого стану, в результаті цього утворюються вільні радикали і переокси-ди, які реагують з ДНК, РНК і білками. При непрямій дії радіації відбувається пошкодження молекул мембран, органел, клітин цими ж продуктами радіолізу води.

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

До дії ультразвуку чутливі (різною мірою) всі прокаріоти. Наприклад, до дуже чутливих належать протей, сальмонели, сирна паличка та інші, до дуже стійких — туберкульозна паличка та багато інших прокаріотів. Інтенсивні дослідження дії електрогідравлічного ефекту на живі об'єкти за допомогою спеціальних установок проводились І. О. Ситником (1982) та іншими дослідниками. Це відкрило широкі можливості для практичного використання електрогідравлічного ефекту при стерилізації молока, соків та інших харчових продуктів, виробництві вбитих вакцин, одержанні внутрішньоцитоплазматичного білка різних видів мікробів, а також для стерилізації питної і стічних вод.

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

3.2. Хімічні фактори.

Хімічний склад середовища істотно впливає на ріст і розвиток прокаріотів. Від нього залежить надходження поживних речовин, і він визначає реакцію середовища, її окислювально-відновний потенціал.

Реакція середовища (pH). Ступінь кислотності або лужності середовища справляє великий вплив на життя мікроорганізмів. Фізіологічно діючою основою в кислих і лужних субстратах є концентрація гідроксильних і водневих іонів (ОН⁻ і Н⁺). Водневий показник реакції середовища pH показує ступінь її кислотності (pH від 7 до 1) або лужності (pH від 7 до 14). Нейтральна реакція середовища відповідає значенню pH 7 (дистильована вода). До найбільш кислих

природних середовищ належать гарячі кислі джерела і їхні ґрунти, рН у них іноді може сягати 1. З цих місць виділено бактерії, які водночас є ацидофілами і термофілами. У природі також трапляються лужні джерела і озера, рН яких може сягати 8—11. З них виділено бактерії, які можуть добре рости при рН = 8 - 10 (ціанобактерії та інші).

Від реакції середовища залежить активність ферментів, яка є основою біохімічної активності мікробів. Наприклад, відомо, що ті самі дріжджі у кислому середовищі утворюють при зброджуванні цукру багато етилового спирту і незначну кількість гліцерину. В лужному субстраті, натомість, вони утворюють із цукру велику кількість гліцерину і дуже мало етанолу.

Більшість бактерій краще розвиваються в нейтральному або слаболужному середовищі. Добре витримують кислотність оцтовокислі, молочнокислі та деякі інші види бактерій. Дуже чутливі до високої кислотності гнильні бактерії. Мікроорганізми, які добре розвиваються в лужному середовищі, дістали назву алкаліфільних. Наприклад холерний вібріон добре розмножується при рН = 9. Прокаріоти, які краще ростуть у кислому середовищі, називаються ацидофільними. На вивченні ставлення різних мікробів до рН середовища ґрунтується низка важливих практичних заходів щодо зберігання деяких харчових продуктів у квашеному й маринованому вигляді. При маринуванні до продуктів додають оцтову кислоту, а при зквашуванні створюють оптимальні умови для розвитку молочнокислих бактерій, які утворюють молочну кислоту та пригнічують розвиток гнилостворюючих бактерій.

Хімічні речовини. Залежно від хімічного складу, концентрації, температури, тривалості дії, виду прокаріотів хімічні речовини можуть чинити на мікроорганізми стимулюючу, бактеріостатичну (пригнічуючу) і бактерицидну дію. Токсичні хімічні речовини, потрапляючи в бактеріальну клітину, взаємодіють з тими чи іншими важливими складовими її та порушують функції бактерій. Це призводить до зупинки росту організму – бактеріостатичний ефект, або до його загибелі – бактерицидний ефект.

Речовини, які діють на мікроби токсично, називають антисептиками, їх дуже широко використовують проти різних шкідливих мікроорганізмів. За характером дії хімічні речовини поділяють на кілька груп:

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

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

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

г) формалін (40% -ний розчин) спричинює денатурацію білків, згубно діє на вегетативні клітини і спори;

д) солі важких металів (мідь, срібло, свинець, цинк, ртуть та інші) призводять до коагуляції білків, а тому обумовлюють загибель не тільки бактерій а також і вірусів..

Характер дії токсичних речовин – бактерицидний чи бактеріостатичний - залежить від концентрації, таким чином токсичність визначається дозою. Крім того, серед мікроорганізмів є форми, стійкі до дії клітинних та метаболічних

токсичних речовин (фенол, діоксин вуглецю, сірководень), а деякі мають здатність використовувати їх в якості джерел живлення. Lecture

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

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

Кисень. Трапляється в природі як у вільному, так і в зв'язаному стані; є обов'язковим компонентом будь-якої клітини. Переважна більшість живих організмів використовують обидві форми кисню. За відношенням до молекулярного кисню серед мікроорганізмів розрізняють: облігатні аероби, облігатні анаероби, факультативні анаероби і мікроаерофіли. Різне відношення бактерій до кисню залежить від їхніх фізіологічних особливостей (М.В.Гусєв, 1992).

Кисень необхідний мікроорганізмам як для конструктивного та к і для енергетичного обміну. Більшість мікроорганізмів використовують кисень

Ступінь аеробності або анаеробності середовища можна кількісно охарактеризувати за допомогою окисно-відновного потенціалу, який виражається символом gH_2 . Цей індекс аналогічний рН. Тільки рН виражає ступінь кислотності і лужності середовища, а gH_2 — ступінь аеробності і анаеробності. У водному розчині, повністю насиченому киснем, $gH_2 = 41$, а при повному насиченні середовища воднем $gH_2 = 0$. Отже, шкала від 0 до 41 характеризує будь-який ступінь аеробності.

3.3 Біологічні фактори.

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

Упродовж еволюції в живій природі виникли різноманітні взаємовідносини як між мікроорганізмами, так і між мікро- та макроорганізмами. При симбіозі (сумісному існуванні) мікроорганізми мікроорганізми діють в основному в результаті впливу продуктів обміну речовин, які можуть проявлятися благоприємно (наприклад виділення вітамінів), або згубно (наприклад антибіотики та токсини)

Форми симбіотичних відносин дуже різноманітні, але їх можна розділити на дві групи: асоціативне (благоприємне) та антагоністичне(конкурентне) взаємовідношення.

Асоціативні форми симбіозу. Асоціативне взаємовідношення широко розповсюджене в природі. Симбіоз — взаємно корисне співіснування організмів

різних видів. Прикладом є співжиття молочнокислих бактерій і дріжджів. Бактерії утворюють молочну кислоту, яка підкислює середовище, створюючи сприятливі умови для росту дріжджів. Останні синтезують ростові речовини, необхідні для розвитку бактерій. Інші приклади симбіозу — лишайник (симбіоз водорості й гриба), бульбочкові бактерії та бобові рослини. Саме на них базується колообіг в природі. До асоціативних взаємовідносин відноситься метабіоз, мутуалізм, синергізм та коменсалізм.

Метабіоз — взаємовідносини між мікробами, при яких продукти метаболізму одного виду прокаріотів використовуються як пожива або енергетичний матеріал іншим видом мікробів. Наприклад, псування цукровмісних плодів та субстратів з них коли в них спочатку розвиваються дріжджі, перетворюючи цукор в спирт, потім оцтовокислі бактерії, які окислюють спирт до оцтової кислоти, і на останок міцелі альні гриби, які окисляють оцтову кислоту до води та вуглекислого газу. Метабіоз найбільш широко розповсюджений в природі.

Мутуалізм — різновидність симбіозу, при якому також існує взаємосприятливий вплив обох партнерів, наприклад взаємовідносини між мікрофлорою рубця жуйних і організмом тварини. Бактерії розкладають клітковину в рубці до сполук, які засвоюються організмом хазяїна, а останній забезпечує бактерії поживними речовинами і захищає їх від несприятливих умов. Другий приклад сумісне існування в природі аеробних та анаеробних бактерій. Аероби поглинають кисень, створюють для анаеробів відповідні умови.

Синергізм - при цій формі взаємовідносин у симбіонтів взаємно посилюються фізіологічні функції і виникають нові властивості. Це явище можна спостерігати при співжитті оцтовокислих бактерій і дріжджів. Бактерії перетворюють цукри на кислоти, які використовуються дріжджами, а останні забезпечують бактерії вітамінами. В молочнокислих заквасках для кефіру використовують дріжджі та молочнокислі бактерії. Вітаміни, що синтезуються дріжджами стимулюють розвиток молочнокислих бактерій, дуже вибагливим до додаткових факторів росту, а молочна кислота створює благоприємне значення рН для розвитку дріжджів.

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

Антагоністичні форми симбіозу. Це група симбіотичних взаємовідносин, які виражаються в явищах антагонізму, антибіозу, паразитизму та хижацтва.

Антагонізм — це такий вид взаємовідносин, коли один з організмів пригнічує або припиняє розвиток іншого, в основному у разі рахунок продуктів життєдіяльності. Прикладом мікробів-антагоністів являються молочнокислі та гнилісні бактерії. Молчнокислі бактерії, виробляючи молочну кислоту, створюють кислу реакцію середовища, створюючи несприятливі умови розвитку для гнилісних бактерій. Це явище використовують при зквашуванні овочів.

Антибіоз пов'язаний зі здатністю одного виду мікроорганізмів виділяти в оточуюче середовище специфічні речовини, які пригнічують життєдіяльність інших, - антибіотики. Деякі з них мають широкий спектр дії по відношенню ряду мікроорганізмів, або вибірковою дією по відношенню до них.

Lecture

Продуцентами антибіотиків можуть бути міцелі альні гриби (наприклад пеніцилові, аспергиллові) бактерії (продуценти граміцидину) але частіше актиноміцети (продуценти стрептоциду окситетрацикліну, біоміцину, тетрацикліну тощо). Ці речовини належать до вторинних метаболітів, їх біосинтез не зв'язаний з ростом мікроорганізмів і вони не є життєво необхідними. Вони утворюються тільки при певних умовах для забезпечення їх продуцентів в умовах конкуренції. Деякі з них можуть виконувати низку фізіологічних функцій в організмі. Антибіотики використовують в якості ефективних лікарських засобів. Антибіотики використовують також, не з лікувальною метою, в якості добавок в корм молодняку твари та птиці. Наприклад, додавання кормового біоміцину підвищує приріст тварин та птиці, збільшує яйценосність птиці, але при цьому вони частково залишаються в організмі тварин та птиці.

Водночас є природні антибіотики, які виробляються рослинами, як захисні речовини проти проникнення мікробних збудників їх хвороб. Про лікувальні властивості вищих рослин було відомо ще в глибоку давнину, («Неопалима кукина», використання ладану, обкурювання помешкань, застилання підлоги травами) проте бактерицидну властивість рослинних виділень вперше було засвідчено Б.П.Токіним у 1928 р. Ці рослинні виділення було названо фітонцидами. Фітонциди — біологічно активні речовини, які виділяються рослинами і характеризуються бактерицидними, фунгіцидними і протистотоксичними властивостями. Б. П. Токін вперше звернув увагу на те, що фітонциди володіють антибіотичними властивостями. Разом з В.Г.Дроботько, Б.Ю.Айзман та іншими дослідниками він науково обґрунтував доцільність використання фітонцидів у медицині та інших галузях народного господарства.

Практично майже кожній рослині притаманні фітонцидні властивості, але не однаковою мірою. Найактивнішою бактерицидною дією характеризуються цибуля, часник, гірчиця, хрін, алое, кропива, полин, черемха, горіх, евкаліпт, цитрусові хвойні, та їх смоли тощо. До складу фітонцидів входять альдегіди, алкалоїди, глікозиди, синильна кислота, хінони і ефірні олії тощо. Серед названих сполук надзвичайно високою антимікробною активністю володіють алкалоїди (анабазин, нікотин, хінін та ін.). Концентровані розчини фітонцидів містяться в ефірних оліях різних ефіромасляничних рослин. Метод їх виділення для європейців відкрив Авіцена. Країни сходу та півдня здавна використовували ефіромасляничні рослини та вмівали виділяти ефірні масла.

Чимало антибіотичних препаратів рослинного походження широко використовуються в медицині, сільському господарстві та інших галузях: аліцин, добутий із часнику; аренарін, виділений із цмину піскового; берберин, який одержують з багатьох видів рослин з родини жовтецевих. Ці препарати виявляють бактерицидну дію на стрептококи, стафілококи, дифтерійну паличку, гонококи і сальмонели. Фітонциди іманін і новоіманін, виділені зі звіробою звичайного, виявилися високо активними проти бактерій і вірусів рослин. Виділений з бавовника антибіотичний препарат госіпол застосовується для лікування оперізуючого лишая, псоріазу та інших вірусних захворювань.

Серед інших рослинних антибіотиків, які виявляють антимікробну дію, слід назвати: лютенарин, виділений з кореневищ глечиків жовтих; ксантин — із коноплі посівної; рафін — із редьки чорної; сальвін — із шавлії лікарської; хінін

— з кори хінного дерева і хлоро-філіпт — з листків евкаліпту. Вважають, що фітонциди є одним із факторів імунітету рослин, також вони відіграють важливу роль у взаємовідносинах організмів у біоценозах. Великий внесок стосовно вивчення і впровадження в практику фітонцидних препаратів зробили вчені Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України.

Питання для самоконтролю.

1. Які умови зовнішнього середовища відносяться до фізичних факторів?
2. Як розділяються мікроорганізми по відношенню до температури середовища?
3. Як діють на мікроорганізми сонячна та інші види випромінювання?
4. Який вплив вологості на мікроорганізми?
5. Які основні хімічні фактори та як вони впливають на мікроорганізми?
6. Що таке біологічні фактори зовнішнього середовища?

4. ОБМІН РЕЧОВИН У МІКРООРГАНІЗМІВ

План

1. Метаболізм та метаболічні шляхи.
2. Дихання мікроорганізмів.
3. Ферменти мікроорганізмів

4.1 Метаболізм і метаболічні шляхи

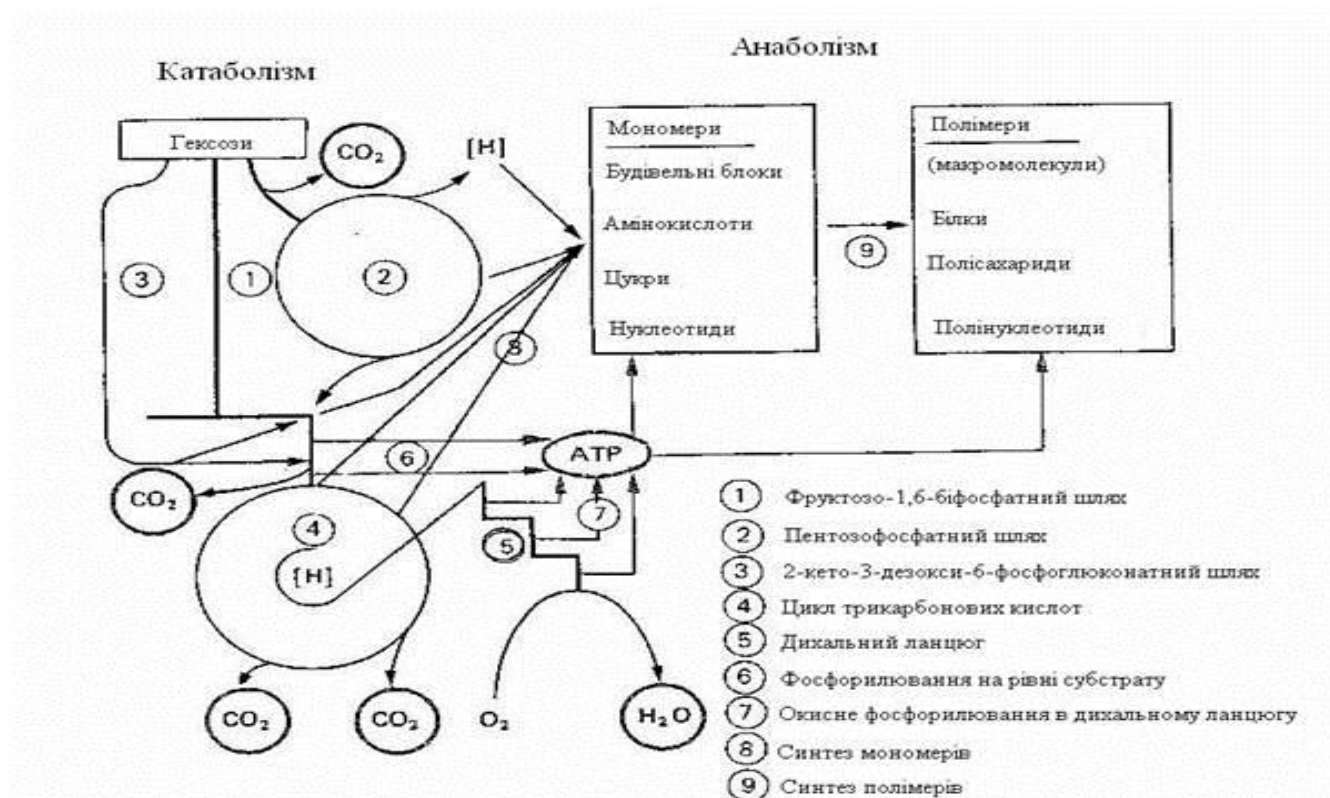
Найважливішою ознакою живої матерії є постійний обмін речовин між організмом і середовищем. Сукупність процесів, які гармонійно поєднані і перебігають у клітині в певній послідовності, забезпечуючи відтворення її біомаси, називають обміном речовин, або метаболізмом.

Існують два напрями метаболізму: анаболізм, або конструктивний обмін, який об'єднує процеси синтезу складових частин тіла організму за рахунок надходження поживних речовин із довкілля, і катаболізм, або енергетичний обмін, що включає процеси розпаду органічних речовин із одночасним вивільненням енергії та акумуляцією її в АТФ та інші високоенергетичні сполуки. У мікроорганізмів розділяють дві форми катаболізму – дихання і бродіння.

Як під час росту, так і в стані спокою вегетативна клітина потребує постійного притоку енергії. Жива клітина являє собою високоорганізовану матерію. Енергія необхідна не тільки для створення такої організації, але й для її підтримання. Цю енергію організм отримує в процесі обміну речовин - метаболізму, тобто шляхом регульованих перетворень, яким різні речовини піддаються всередині клітини. Джерелами енергії слугують поживні речовини, що надходять із зовнішнього середовища. В клітинах ці речовини проходять ряд змін в результаті послідовних ферментативних реакцій, що утворюють етапи певних метаболічних шляхів. Такі шляхи виконують дві головні функції: вони, по-перше, постачають матеріали-попередники для побудови клітинних компонентів і, по-друге, забезпечують енергію для клітинних синтезів та інших процесів, що потребують затрат енергії.

Перетворення сполук в клітині (обмін речовин або метаболізм), в результаті яких із порівняно простих попередників, наприклад глюкози, жирних кислот з

довгим ланцюгом або ароматичних сполук, утворюється нова клітинна речовина, можна підрозділити на три основні групи. Спочатку поживні речовини розщеплюються на невеликі фрагменти (розпад, або катаболізм), а потім в ході реакцій проміжного обміну, або амфіболізму, вони перетворюються в ряд органічних кислот і фосфорних ефірів. Ці два шляхи переходять непомітно один в один. Багато чисельні низькомолекулярні сполуки – це той субстрат, з якого синтезуються основні будівельні блоки клітини. «Будівельними блоками» називаються амінокислоти, пуринові та піримідинові основи, фосфорильовані цукри, органічні кислоти та інші метаболіти – кінцеві продукти ланцюгів біосинтезу, іноді довгих. З них будуються полімерні макромолекули (нуклеїнові кислоти, білки, резервні речовини, компоненти клітинної стінки і т.д.), з яких складається клітина. Ці два етапи біосинтезу клітинних сполук – синтез будівельних блоків і синтез полімерів – складають синтетичну гілку метаболізму, або анаболізм.



Мал. 23. Схема обміну речовин у аеробних клітин, що розщеплюють гексози

Основними процесами метаболізму живої матерії є живлення і дихання.

Процеси конструктивного метаболізму. Хімічний склад бактеріальної клітини

Хімічний склад клітин мікроорганізмів практично не відрізняється від складу клітин інших істот біосфери. Мікробні клітини майже цілком складаються з води (біля 80%). Лише 20% вмісту клітини припадає на сухі речовини. Якщо їх прийняти за 100%, то хімічний склад клітини буде такий: вуглецю - 46-50%, кисню - 30, водню - 6-7, азоту - 7-14, мінеральних речовин - 2-14%.

До мінеральних речовин належать: фосфор, калій, натрій, магній, сірка, кальцій, хлор, залізо, цинк, бор, хром та інші. Вода знаходиться в двох станах – вільна та зв'язана. Вільна – розчинник джерело іонів Н та ОН, учасник ферментолізу, транспорту речовин. Друга, зв'язана, хімічно-, адсорбційно, осмотично, та механічно. Вміст води в клітинах мікроорганізмів впливає на їх життєдіяльність, її стан, тому втрата вільної води призводить клітину до анабіозу, а зв'язаної - до загибелі клітини (абіозу).

Усе необхідне клітина одержує разом з білками, жирами, вуглеводами та іншими речовинами, якими вона живиться.

Білки - високомолекулярні органічні сполуки із залишків амінокислот. Вони грають найважливішу роль у життєдіяльності клітин, виконуючи функції побудови, розвитку і обміну речовин, передавання спадкових ознак. Вміст білків складає 50-80% сухої речовини, вони є основними і найважливішими біополімерами в біомасі мікроорганізмів. Білки являються будівельним матеріалом, і виконують транспортну регулюючу та каталітичну та антигенну функцію.

Ферменти - специфічні білки, що присутні у всіх живих клітинах і виконують функції біологічних каталізаторів. Завдяки ним реалізується генетична інформація і здійснюються процеси обміну речовин і енергії в живих організмах. Ферменти бувають простими або складними білками; останні з білковими компонентами містять небілкову частину - кофермент. Білки – ферменти забезпечують протікання біохімічних реакцій. В залежності від їх локалізації розрізняють екзоферменти, які клітина продукує назовні для забезпечення позаклітинного травлення, та еноферменти – каталізatori внутрішньоклітинного метаболізму. Набір ферментів являється характеристикою певних видів. Здатність синтезувати конститутивні ферменти кодується клітинним геномом, являється постійною ознакою, і не залежить від субстрату. Адаптивні або індукцйбельні ферменти синтезуються при зміні факторів середовища. Нуклеопротейди і нуклеїнові кислоти відповідають за процеси спадковості і мінливості.

Вуглеводи - група органічних природних сполук. Розрізняють прості вуглеводи - моносахариди, або сахари (глюкоза, фруктоза), і складні - полісахариди, які поділяють на низькомолекулярні - дисахариди (сахароза, лактоза) і високомолекулярні (крохмаль, клітковина). Вуглеводи вважаються енергетичним матеріалом. Завдяки їм у клітині здійснюються процеси утворення і перетворення енергії. Прості та складні вуглеводи виконують запасну та енергетичну захисну, будівельну антигенну та інші функції. Концентрація вуглеводів становить 12-28% на суху речовину.

Жири (ліпіди) – органічні сполуки, складні ефіри гліцерину та вищих жирних кислот. Вони так звані резервні (запасні) речовини, важливе джерело енергії організму. Ліпіди мікроорганізмів входять до складу біомембран і клітинних стінок, являється джерелом енергії, виконують функції запасу. Від його вмісту залежить резистивність (стійкість) деяких бактерій до дії високих та низьких температур. Вміст ліпідів становить 3-10% на суху речовину.

Поживні потреби мікроорганізмів. Для мікроорганізмів, як і для всіх інших живих істот, живлення є необхідним. Поживні речовини надходять із

зовнішнього середовища в живий організм і використовується ним або як будівельний матеріал, або як джерело енергії для процесів життєдіяльності.

Вивчення хімічного складу мікробів показало, що для біосинтезу основних макромолекул їхнього тіла, з яких формується оболонка, мембрана, цитоплазма, нуклеоїд та інші компоненти, вони повинні одержувати для живлення вуглець, азот, фосфор, сірку, кисень, залізо, калій, магній, кальцій, хлориди, мікроелементи тощо.

Крім поживних елементів, що використовуються на побудову структурних компонентів клітини, мікроби також потребують постійного джерела енергії, яка використовується для біосинтезу різних сполук та інших життєвих процесів у клітині.

Одним із найважливіших поживних елементів є *вуглець*. Потреби різних мікроорганізмів у джерелах цього елемента різноманітні. Фото- синтезуючі організми, що використовують сонячну енергію, а також бактерії, які одержують енергію під час окислення неорганічних речовин. використовують як головне джерело вуглецю найбільш окислену його форму – CO_2 .

Джерелом азоту для різних видів мікроорганізмів можуть бути найрізноманітніші азотисті сполуки, а для деяких – навіть молекулярний азот атмосфери. Найдоступнішим джерелом азоту для багатьох мікробів є іони амонію (NH_4^+) і аміак (NH_3), які досить швидко приникають у мікробну клітину і трансформуються в іміно- та аміногрупи. Більшість мікробів асимілюють мінеральні форми азоту.

Поряд з мінеральними джерелами азоту багато видів мікроорганізмів використовують азот органічних речовин. які водночас слугують для них також джерелом вуглецю та енергії. Використання органічних джерел азоту пов'язується, як правило, з відщепленням від них NH_3 і поглинанням його мікробною клітиною. Деякі мікроорганізми можуть засвоювати також амінокислоти. Білками можуть живитися ті мікроби, що виділяють у зовнішнє середовище екзоферменти.

Сірка є необхідним поживним елементом для мікроорганізмів. Вона міститься в клітинах в основному у відновленій формі, зокрема у вигляді сульфідної групи. Більшість мікробів може використовувати для живлення сульфати. Проте є бактерії, які потребують для свого живлення відновлених сполук сірки. Для них джерелом сірки можуть бути неорганічні сульфіди, тіосульфати і органічні сполуки, що містять сірку.

Фосфор входить до складу дуже важливих органічних сполук мікробної клітини: нуклеїнових кислот, фосфоліпідів, коферментів, АТФ тощо. Без фосфору мікроорганізми не можуть рости і розвиватися. На відміну від азоту і сірки фосфор входить до органічної речовини тільки в окисленому стані (H_3PO_4). Фосфор надходить у мікробну клітину у вигляді молекул фосфорної кислоти і в незмінній формі бере участь у різних біологічних процесах. Найкращим джерелом фосфору для більшості мікроорганізмів є різні солі ортофосфатної кислоти.

Калій активує ферментні системи, відіграє істотну роль у вуглеводневому обміні та синтезі клітинних речовин. Джерелом калію для мікроорганізмів є його солі.

Магній входить до складу хлорофілу у зелених і пурпурних сіркобактерій, ціанобактерій, а також є активатором низки ферментів. У клітині перебуває переважно в іонному стані. Для нормального росту й розвитку деяких бактерій необхідний також *кальцій*. Джерелом цих поживних елементів для мікробів є їхні водорозчинні солі.

Залізо також належить до незамінних поживних елементів. Мікроорганізми використовують його в дуже малих кількостях. Однак нормальний розвиток їх без цього елемента неможливий, оскільки залізо входить до гемінового угруповання, яке є коферментом для низки важливих дихальних ферментів (цитохроми, цитохромоксидаза, каталаза, пероксидаза тощо). Джерелом заліза для мікробів можуть бути сульфати та інші його солі.

Крім названих поживних елементів, мікроорганізмам також потрібні для живлення і *мікроелементи* (бор, цинк, мідь, марганець, молібден та ін.). Вони засвоюються мікробами в дуже малій кількості, але, незважаючи на це, нормальний розвиток мікробів без них є неможливим, оскільки вони входять до складу багатьох ферментів, а також є їхніми активаторами.

Поряд з макро- і мікроелементами мікроорганізми потребують для своєї життєдіяльності в невеликих кількостях і спеціальних речовин або, як їх ще називають, факторів росту – вітамінів і вітаміноподібних речовин, пуринів і піримідинів, амінокислот тощо.

5.2. Дихання мікроорганізмів.

Водночас з процесами живлення у мікроорганізмів відбуваються процеси дихання, суть яких полягає в окисленні складних органічних сполук до простих з одночасним виділенням енергії, яка використовується мікроорганізмами для росту, розвитку, розмноження та інших процесів життєдіяльності.

Більшість мікробів (як і вищі рослини та тварини) для дихання використовують молекулярний кисень атмосфери. Натомість ще в 1861 р. Л.Пастер відкрив, що деякі дріжджі і бактерії можуть жити без доступу атмосферного кисню. Енергію, потрібну для життя, вони дістають завдяки процесам бродіння. Для визначення життя в безкисневому середовищі Л.Пастер запропонував термін анаеробіоз.

За типом дихання або ставлення до кисню повітря всі мікроорганізми поділяють на облігатних аеробів, мікроаерофілів, факультативних анаеробів і облігатних анаеробів.

Облігатні аероби добре розвиваються, якщо в атмосфері близько 20% кисню (сарцини, сінна паличка, туберкульозні палички, холерні вібріони та ін.).

Мікроаерофіли потребують для свого розвитку значно менше кисню, оскільки висока концентрація його хоч і не вбиває, але пригнічує їхній ріст (молочнокислі бактерії, актиноміцети, лептоспіри тощо).

Факультативні анаероби можуть жити як в аеробних, так і в анаеробних умовах, тобто за наявності й за відсутності молекулярного кисню (більшість сапрофітних і патогенних мікробів).

Облігатні анаероби за присутності молекулярного кисню повітря розвиватися не можуть. Для них він є шкідливим чинником. До цієї групи належать збудники маслянокислого бродіння, клостридії правця, ботулізму та ін.

Хемолітотрофні мікроорганізми добувають енергію шляхом окислення таких неорганічних сполук, як аміак, сірководень, нітрити, молекулярний водень, залізо двовалентне тощо. Ці сполуки використовуються як субстрати дихання, тобто донори електронів. Однак слід зазначити, що літотрофія характерна для порівняно невеликої групи аеробних прокаріотів. У клітинах цих організмів функціонує ЕЛТ (електронно-транспортний ланцюг), і синтез АТФ здійснюється за окислювального фосфорилування. При цьому окислення таких субстратів, як відновлені сполуки сірки і водень, супроводжується перенесенням електронів на НАД⁺, у результаті чого виникає відповідний потенціал, необхідний для відновлення CO₂ до вуглеводів.

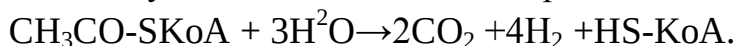
Як уже зазначалося, фототрофні прокаріоти як джерело енергії використовують сонячне світло. В їхніх клітинах відбувається перетворення світлової енергії на енергію АТФ. Поряд з цим у фототрофів використання світла як джерела енергії потребує додаткового підключення хімічних сполук, які служать донорами електронів, для енергетичного ресурсу для живих організмів.

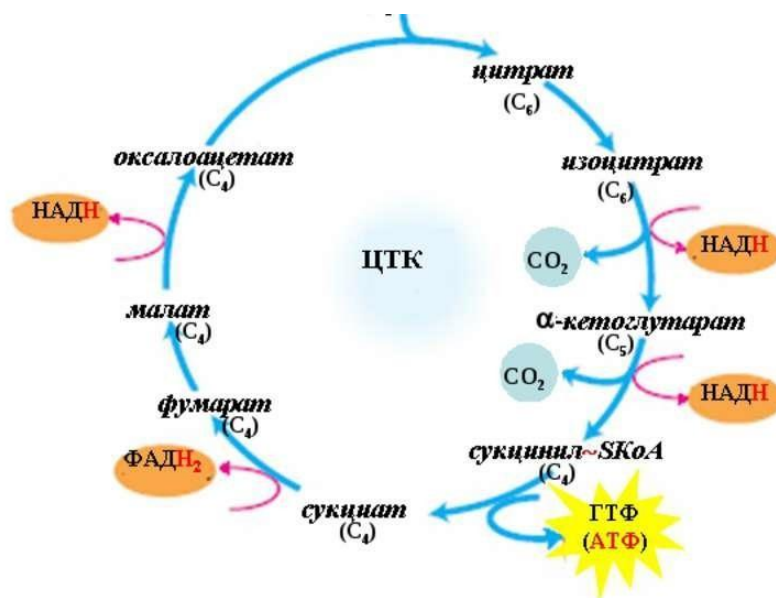
Аеробне дихання мікроорганізмів.

Дихання, під час якого відбувається окислення органічних речовин за допомогою кисню повітря, називається аеробним. Аеробні мікроорганізми (як і тварини або вищі рослини) в процесі дихання можуть окислювати різні органічні сполуки: вуглеводи, жири, білки, органічні кислоти тощо. Аеробне дихання — найдосконаліший спосіб утворення енергії організмом. У бактерій воно у багатьох відношеннях подібне до аеробного дихання вищих організмів.

Хімізм аеробного дихання мікроорганізмів складається з двох фаз:

Перша включає серію послідовних реакцій, завдяки яким органічні сполуки окислюються до CO₂, а атоми водню, які звільняються внаслідок цих реакцій, переміщуються до відповідних акцепторів. У першій фазі здійснюється цикл реакцій трикарбонових кислот, який ще має назву циклу Кребса. Піровиноградна кислота, що утворилася під час розщеплення глюкози під впливом складної мультиферментної системи піруватдегідрогенази, піддається окислювальному декарбоксилуванню і перетворюється на активовану оцтову кислоту, або скорочено — ацетил-КоА. Цей активний ацетат далі вступає в цикл трикарбонових кислот. Суть реакцій, які входять до циклу, полягає в тому, що ацетил-КоА конденсується з щавелевооцтовою кислотою. Далі перетворення йде через низку ди- і трикарбонових кислот. У процесі циклу приєднуються три молекули H₂O, виділяються дві молекули CO₂ і чотири пари водню, які відновлюють відповідні коферменти (ФАД і НАД). Сумарну реакцію циклу можна показати таким рівнянням:





Мал. 24.

Друга фаза аеробного дихання мікроорганізмів складається з реакцій окислення атомів водню, які звільнилися в циклі трикарбонових кислот, киснем повітря з утворенням АТФ.

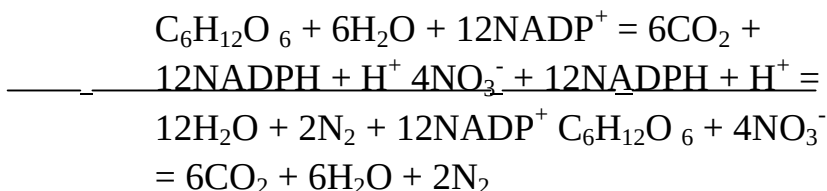
У мікробів (як і у вищих організмів) є особливий апарат — електронно-транспортний ланцюг, за допомогою якого водень (електрони і протони) переноситься від НАД • Н + Н⁺ через низку етапів аж до кінцевого акцептора — кисню повітря. Рухомою силою транспорту водню в дихальному ланцюзі є різниця потенціалів. Саме в процесі передачі по ЕТЛ електронів енергія частково нагромаджується в АТФ. Процес нагромадження енергії окислення в АТФ при русі електронів по ланцюгу переносників (якими переважно є ферменти з класу оксидоредуктаз) дістав назву окислювального фосфорилювання.

Сумарно повне окислення глюкози можна зобразити таким рівнянням:

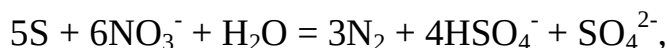


Анаеробне дихання

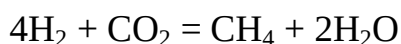
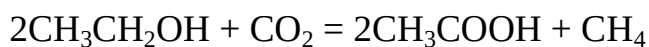
Окислення органічних субстратів, а також деяких неорганічних речовин може відбуватися за анаеробних умов. При цьому електрони і протони, які відщеплюються від енергетичних субстратів, потрапляють у дихальний ланцюг. Кінцевими акцепторами можуть бути нітрати, карбонати, сульфати. В залежності від цього розрізняють нітратне, карбонатне, сульфатне дихання. Наприклад, динітрифікуючі бактерії можуть окислювати органічні речовини з відновленням азотонітратів до N₂. На кожному етапі відновлення бере участь H₂, який переноситься дегідрогеназами від органічних субстратів:



Деякі види мікроорганізмів, наприклад, тіобацили, можуть використовувати в процесі денітрифікації енергію неорганічних сполук. Наприклад, відновлюючи нітрати до N_2 , вони паралельно окислюють сірку до сульфату.



В анаеробних умовах мікроорганізми можуть отримувати енергію за рахунок окислення спиртів і кислот і паралельного окислення молекулярного водню. При цьому як акцептор електронів використовується CO_2 , який відновлюється до метану. Таким чином, функціонують метаноутворюючі бактерії.



Використання енергії світла

Мікроорганізми, які здатні використовувати енергію світла, називаються фототрофними: ціанобактерії, пурпурні і зелені бактерії, пурпурні сіркобактерії, деякі галобактерії і ін. Деякі фототрофні бактерії здійснюють так званий аноксигенний фотосинтез (в анаеробних умовах). При цьому не утворюється O_2 .



Внаслідок окислення сірководню сірка може відкладатись у вигляді гранул або може накопичуватися поза клітиною.

Ціанобактерії здійснюють оксигенний фотосинтез.



Фотосинтезуючий апарат мікроорганізмів складається з трьох компонентів:

1. вітловловлюючі пігменти (пігменти-антени) – поглинають енергію світла і передають її у реакційний центр;
2. фотохімічні реакційні центри – у них енергія трансформується з електромагнітної в хімічну;
3. фотосинтезуючі електронно-транспортні системи. У них перенесення електронів спряжене із синтезом АТФ.

Під дією світла пігментний комплекс бактерій переходить у збуджений стан. Енергія мігрує до реакційних фотохімічних центрів, де активуються фотохлорофіли. Під дією енергії, яка передається з активного комплексу, у молекулі бактеріохлорофілу вибиваються електрони з високим

відновлювальним потенціалом. Цей електрон відновлює певний переносник, при цьому збуджений електрон намагається повернутися у вихідне положення і заповнити дірку пігменту, яка утворилась при цьому. За допомогою спеціальних переносників електронів енергія передається на окислений NAD^+ і утворюється NADH_2 .

4.3 Ферменти мікроорганізмів

Структура, властивості, синтез, функція і класифікація ферментів мікроорганізмів такі ж, як у більш складних організмів. Однією з особливостей ферментів мікроорганізмів є перевага адаптивних ферментів над конститутивними, що зв'язано як з малим обсягом протоплазми, так і з їх роллю головного механізму адаптації до мінливих умов зовнішнього середовища. До особливостей ферментів мікроорганізмів у гетеротрофних мікроорганізмів може бути також віднесене виділення їх у великих кількостях у зовнішнє середовище.

Ця група так званих *ектоферментів* здатна викликати трансформацію (деградування) будь-яких органічних і неорганічних речовин, повертаючи вхідні в їх сполуку елементи й енергію в новий цикл колообігу речовин і енергії. Ектоферменти здійснюють контактне і позаклітинне переварювання речовин, ушкоджують тканини своїх господарів, беруть участь у процесі самоочищення води і ґрунту від органічних залишків і ін. Визначення ферментів мікроорганізмів використовують у бактеріологічній практиці для ідентифікації бактерій. Очищені чи ферменти, що входять до складу бактерій застосовують для одержання великої кількості необхідних промисловості і медицині препаратів і матеріалів, включаючи мікробний білок, антибіотики, вітаміни й ін. Харчування мікроорганізмів здійснюється завдяки наявності в клітці різних ферментів, які каталізують всі життєво необхідні реакції.

Види	ферментів	та	їх	роль
------	-----------	----	----	------

Ферменти - це біологічні каталізатори білкової природи. Мікробна клітка, подібно кліткам вищих організмів, оснащена досить активним ферментативним апаратом. Ферменти мікроорганізмів мають ті ж властивості і функції, що і ферменти вищих організмів.

Відповідно до каталізуючих реакцій усі ферменти розділяють на шість класів:

1. Оксидоредуктази - каталізують реакції окислювання-відновлення.
2. Трансферази - каталізують реакції переносу різних груп від донора до акцептора.
3. Гідролази - каталізують розриті зв'язків у субстратах із приєднанням води.
4. Ліази - каталізують реакції розриву зв'язків у субстраті без приєднання води чи окислювання.

5.Ізомерази - каталізують перетворення в межах однієї молекули (внутрімолекулярні перебудови).

6.Лігази (синтетази) - каталізують приєднання двох молекул з використанням енергії фосфатних зв'язків.

Незважаючи на малі розміри мікробної клітки, розподіл у ній ферментів суворо впорядкований. Ферменти енергетичного обміну і транспорту живильних речовин локалізовані в цитоплазматичній мембрані і її похідних. Ферменти білкового синтезу зв'язані з рибосомами. Багато ферментів не зв'язані з визначеними структурами клітки, а знаходяться в цитоплазмі в розчиненому виді.

Ферменти бактерій підрозділяються на екзо- і ендоферменти. Ендоферменти функціонують тільки усередині клітки. Вони каталізують реакції біосинтезу й енергетичного обміну.

Екзоферменти виділяються кліткою в середовищі та каталізують реакції гідролізу складних органічних сполук на більш прості, доступні для асиміляції мікробною кліткою. До них відносяться гідролітичні ферменти, що грають винятково важливу роль у харчуванні мікроорганізмів.

У залежності від умов утворення ферментів їх розділяють на конститутивні і індукцибельні. Конститутивними називають ферменти, синтезовані кліткою поза залежністю від субстрату, на якому розвиваються бактерії. Наприклад, ферменти гліколізу. Індукцибельні ферменти синтезуються тільки у відповідь на присутність у середовищі необхідного для клітки субстрату-індуктора. Він взаємодіє з репресором, інактивує його, у результаті чого включається генетичний апарат клітки і починається синтез відповідного ферменту.

Індукований синтез ферментів йде, поки в середовищі присутня індуктор. При цьому ферменти синтезуються заново у всіх клітках одночасно. Індукторами біосинтезу є багато живильних речовин.

Деякі ферменти, так звані ферменти агресії, руйнують тканини і клітки макроорганізму, обумовлюючи тим самим поширення патогенних мікроорганізмів і їхніх токсинів в інфікованих тканинах. До таких ферментів відносяться плазмокоагулаза, нейрамінідаза, колагеназа, лецитиназа, гіалуронідаза і деякі інші ферменти. Гіалуронідаза стрептококів, наприклад, розщеплює гіалуронову кислоту в мембранах кліток сполучних тканин макроорганізму, що сприяє поширенню збудників і їхніх токсинів в організмі, обумовлюючи високу інвазивність цих бактерій. Плазмокоагулаза є головним чинником патогенності стафілококів, тому що бере участь у перетворенні протромбіну в тромбін, що викликає утворення фібриногену, у результаті чого кожна бактерія покривається плівкою, що охороняє її від фагоцитозу.

Використання ферментів мікроорганізмів людиною

Ферменти мікроорганізмів, такі як лігази і рестриктази, знайшли широке застосування в біотехнології, у тому числі в генетичній інженерії, для одержання

різних біологічно активних речовин, гібриди, продукovanі моноклональні антитіла, а також ряд продуктів у легкій і харчовій промисловості. Ферменти мікроорганізмів характеризують їх біологічні властивості і тому їх досліджують з метою ідентифікації бактерій. У залежності від субстрату гідролітичні ферменти прийнято поділяти на дві великі групи:

- гідролітичні або цукролітичні ферменти, субстратом для яких є різні цукри, а продуктами їх розщеплення - кислоти, спирти, альдегіди, H_2O ;
- протеолітичні ферменти, що розщеплюють білки з утворенням поліпептидів, амінокислот, аміаку, індолу, сірководню.

Для вивчення активності ферментів при ідентифікації мікроорганізмів широко використовують диференційно-діагностичні середовища, до складу яких входять визначені субстрати – цукри чи білки.

При дослідженні гідролітичної активності бактерій поширені моносубстратні диференційно-діагностичні середовища Гісса (строкатий ряд Гісса), лактозовмісні середовища Ендо, Левіна, Плоскірева, дисубстратні середовища Ресселя, полісубстратні середовища Кліглера й Олькеницького. Останні можуть служити і для вивчення протеолітичних властивостей бактерій, тому що ріст мікроорганізмів супроводжується вивільненням аміаку. Протеолітичні ферменти бактерій визначаються також по виділенню індолу, сірководню, розщепленню деяких амінокислот, наприклад, фенілаланіна, лізіна, цистина. Протеолітичні ферменти здатні змінювати (розріджувати) желатин, причому, різні види бактерій по різному змінюють «стовпчик» желатину в пробірці з посівом мікроорганізму. Так, при росту холерного вібріона «стовпчик» желатину приймає форму цвяха, при росту стафілокока - панчохи, при росту синегнійної палички спостерігається поширене розрідження середовища.

Окислювально-відновні ферменти, дегідрогенази, каталазу визначають по зміні органічного барвника - акцептора водню. Здатність мікроорганізмів використовувати як джерело вуглецю цитрат оцінюють у спеціальних тестах заснованих на роботі ферментів.

У практичних бактеріологічних лабораторіях широко застосовують микро- і експрес -методи для орієнтованого вивчення біохімічних властивостей мікроорганізмів. Для цієї мети існує безліч тест-систем. Найбільше часто використовують систему індикаторних паперів (СИБ). Сиби представляють із себе диски фільтрувального папера, просочені розчинами чи цукрів інших субстратів у сполученні з індикаторами. Такі диски опускають у пробірку з виростом в рідкому живильному культур середовищі. По зміні кольору диска із субстратом судять про роботу ферменту. Микро-тест системи для вивчення ідентифікації ентеробактерій представлені одноразовими пластиковими контейнерами із середовищами, що містять різні субстрати, з додаванням індикаторів. Посів чистої культури мікроорганізмів у такі тест-системи дозволяє швидко виявити здатність бактерій утилізувати цитрати, глюкозу, сахарозу, виділяти аміак, індол, розкладати сечовину, лізин, фенілаланін і т.д.

Питання для самоконтролю.

1. Назвіть хімічний склад бактеріальної клітини.

2. назвіть відмінності в аеробному та анаеробному типах дихання.
3. Які типи ферментів та їх роль в обміні речовин мікроорганізмів?

ТЕМА № 5. ПЕРЕТВОРЕННЯ МІКРООРГАНІЗМАМИ СПОЛУК ВУГЛЕЦЮ

План

1. Способи отримання енергії мікроорганізмами.
2. Бродіння.
 - Спиртове бродіння.
 - Молочнокисле бродіння.
 - Пропіоновокисле бродіння.
 - Маслянокисле бродіння.
3. Окислення.

5.1. Способи отримання енергії мікроорганізмами

Практично всі біосинтетичні процеси, що відбуваються в клітині, потребують енергії АТФ. Відомі три основні способи утворення АТФ:

- 1 субстратне фосфорилування (гліколіз, цикл трикарбонових кислот);
- 2 окисне фосфорилування (дихальний ланцюг);
- 3 фотофосфорилування.

Енергія, яка запасється у вигляді АТФ, вивільняється в результаті окислення. Реакції окислення в клітині відбуваються за рахунок відщеплення водню від субстратів. При цих реакціях використовуються коферменти, які приєднують водень. В клітині змінюється окисно-відновний баланс, баланс відновлених і окислених форм цих коферментів. Для регенерації окислених форм NAD^+ різні мікроорганізми використовують різні шляхи. Якщо мікроорганізми використовують в якості кінцевого акцептора протонів і електронів кисень, то це аеробне дихання. Якщо використовують інші хімічні сполуки, наприклад, нітрати, карбонати, сульфати, то це – анаеробне дихання. Регенерація окислених форм NAD^+ з використанням інших органічних сполук (оцтовий альдегід (спиртове), ПВК (молочно-кисле), тощо) – це бродіння.

5.2. Бродіння

Бродіння – це метаболічний процес, неповного окислення органічних речовин в анаеробних умовах. Донорами водню є органічні речовини, акцепторами водню при бродінні також є органічні речовини. Це проміжні прожукти, які при цьому відновлюються. При бродінні енергії виділяється значно менше, ніж при окисленні 1 грам-молекули глюкози в анаеробних умовах, наприклад при спиртовому бродінні, що проходить за участі дріжджів - всього 118 кДж. Інші види бродіння (молочно-кисле, маслянокисле тощо) протікають також з неповним виділенням енергії глюкози, так як частина

вільної енергії переходить в утворені відновлені продукти бродіння, які накопичуються в середовищі. Lecture

Кожен тип бродіння спричинюється особливою групою мікроорганізмів, і при цьому утворюються специфічні кінцеві продукти. Поряд з цим будь-який вид бродіння можна розглядати як двостадійний процес. Перша стадія включає перетворення глюкози до піровиноградної кислоти. При цьому відбувається розрив ланцюга глюкози і відщеплення двох пар атомів водню. На другій стадії атоми водню використовуються для відновлення піровиноградної кислоти або утворення з неї сполук.

У мікроорганізмів відомо три шляхи перетворення глюкози до ПВК:

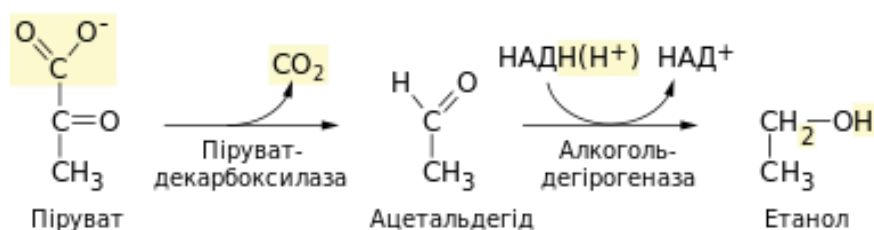
- шлях Ембдена-Мейергофа-Парнаса, або гліколіз (характерний для всього живого);
- шлях Ентнера-Дудорова (знайдено тільки у бактерій);
- пентозофосфатний шлях (знайдено у більшості мікроорганізмів).

Основний шлях розщеплення вуглеводів – це гліколіз:



Спиртове бродіння.

За спиртового бродіння піровиноградна кислота, яка утворилася на стадії окислення, декарбоксилюється до оцтового альдегіду за участю піруватдекарбоксилази, який (альдегід) далі відновлюється до етанолу. Останню реакцію каталізує алкогольдегідрогеназа:



Основними продуцентами етилового спирту є *Saccharomyces cerevisiae*; а також деякі види анаеробних або факультативно-анаеробних бактерій: *Sarcina fentriculi*, *Zymomonas mobilis*; деякі молочнокислі бактерії: *Leuconostoe mesenterides*.

Поряд із головним продуктом бродіння— $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ і CO_2 у невеликій кількості утворюються побічні продукти: гліцерол, оцтовий альдегід, оцтова і янтарна кислоти, сивушні олії— суміш вищих спиртів. Походження сивушних олій (вищих спиртів — бутилового, ізобутилового, ізоамілового) пов'язане з перетворенням амінокислот, які утворюються у процесі живлення дріжджів. На життєдіяльність дріжджів негативно впливає етиловий спирт, який спочатку пригнічує їх розвиток (2-5 % об.), а потім взагалі припиняється процес бродіння (12-14% об.) Лохвицька раса дріжджів витримувала концентрацію спирту до 18% об.

По відношенню до температури сахароміцети розподіляються на верхові та низові. Верхові, або дріжджі верхового бродіння, викликають бурхливе та швидке бродіння за температури 20-28°C. При цьому вони спливають на поверхню під дією діоксиду вуглецю, який виділяється при бродінні. Після закінчення процесу дріжджі осідають на дно бродильних ємкостей нещільним шаром.

Низові, або дріжджі низового бродіння, здійснюють більш спокійне повільне бродіння, особливо якщо його ведуть за температури 5-10°C. газ виділяється поступово, піни утворюється менше, дріжджі осідають на дно ємкості, утворюючи щільний осад.

Спиртове бродіння протікає в кислому середовищі (рН 4-4,5), а в лужному середовищі (рН 8) дріжджі в якості основного продукту виділяють не спирт, а гліцерин (до 40% по відношенню до зброженого цукру)

Значення спиртового бродіння: ряд харчових виробництв базується на життєдіяльності сахароміцетів, що викликають спиртове бродіння. Воно лежить в основі виробництва спирту етилового, пива, вина, а також в хлібопекарській. Разом з молочнокислим бродінням воно використовується у виробництві квасу, кефіру, кумису. При цьому дріжджі, що використовуються в кожному з названих виробництв, мають специфічні властивості. Більш того в однім і тім же виробництві можуть використовуватися різновидності одного й того ж виду, що відрізняються між собою однією чи декількома особливостями. Такі культури називають расами або штамми. Кожне виробництво використовує кілька рас, що

задовольняють певні вимоги.

Молочнокисле бродіння (МКБ)

Висока вимогливість до поживного середовища визначає розповсюдження молочнокислих бактерій в природі. Вони майже ніколи не зустрічаються в ґрунті чи водоймах, а перебувають в основному на рослинах, плодах, овочах, фруктах, з яких і потрапляють в шлунково-кишковий тракт та густо заселяють його, в молоці та молочних продуктах, а також в місцях розкладу рослинних продуктів. В якості джерела вуглецю використовують лактозу чи мальтозу.

Залежно від продуктів, які виробляються під час бродіння, всі молочнокислі бактерії поділяють на дві групи — гомоферментативні, що утворюють при зброджуванні цукрів як основний продукт молочну кислоту і незначну кількість інших продуктів, і гетероферментативні, які в процесі зброджування цукрів, крім молочної кислоти, утворюють значну кількість інших речовин: кислоти, спирт, вуглекислий газ тощо. Кінцеві продукти, що утворюються при гетероферментативному молочнокислому бродінні, накопичуються в середовищі в різних кількісних співвідношеннях, що залежить від виду мікроорганізмів, поживного середовища та зовнішніх умов.

Гомоферментативне МКБ:



Гомоферментативне молочнокисле бродіння зумовлюють представники родів *Streptococcus*, *Pedococcus* і *Lactobacillus*. Найважливішим із них для промисловості є молочнокислий стрептокок (*Streptococcus lactis*) — кулясті бактерії, з'єднані в довгі ланцюжки. Найкраще розвиваються при температурі 30—35 °С, спричиняють природне скисання молока. Використовуються для виготовлення простокваші, сиру та інших кисломолочних продуктів.

Гетероферментативне МКБ: здійснюють бактерії родів *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*. Представники роду *Leuconostoc* найчастіше трапляються на рослинах.

Молочнокислі бактерії вирізняються від інших мікрорганізмів надзвичайною вибагливістю до складу поживного середовища, вони потребують повного набору готових амінокислот, вітамінів групи В, в компонентах нуклеїнових кислот. Молочнокислі бактерії можуть

утворюватиме однакову кількість кислоти від 1 до 3,5%, у зв'язку з цим ^{Lecture} вони можуть розвиватися при рН близько 4. Здатність молочнокислих бактерій підкислювати середовище використовується для пригнічення розвитку гнилоствних бактерій в різних продуктах (при зквашуванні капусти, солінні овочів та фруктів, дозріванні м'яса)

Серед молочнокислих бактерій є мезофіли, які розвиваються за середньої температури близько 30°C, та термофіли, що розвиваються при підвищенні температури до 40-50°C.

Значення МКБ:

Молочнокисле бродіння широко застосовують для виготовлення молочних продуктів (кефір, простокваша, ряжанка), у хлібопеченні, при квашенні, овочів, силосуванні кормів, виготовленні деяких сортів ковбас. Цей вид бродіння використовують і при обробці хутрових шкур та у виробництві молочної кислоти для потреб консервної, кондитерської промисловості, а також при виробництві безалкогольних напоїв.

Під час комбінованого бродіння паралельно відбуваються два процеси — молочнокисле й спиртове бродіння. Цей вид бродіння широко застосовують у практиці виготовлення таких молочнокислих продуктів, як кефір, кумис йогурт тощо. Наприклад, для виготовлення кефіру використовують закваску кефірних зерен, в якій є молочнокислі бактерії *Lactobacillus casei*, стрептококи і дріжджі *Saccharomyces kefir*.

Молочнокислі бактерії разом з пропіоновокислими приймають участь в дозріванні сирів. Мезофільні молочнокислий та вершковий стрептококи до складу заквасок сметани, творогу, вершкового масла та маргарину, в останньому випадку для надання аромату продуктам використовують ароматоутворюючі види (гетероферментативні стрептококи – *S. Diacetylactis*).

Для виготовлення чорного (найчастіше житнього) хліба використовують закваску з тіста, яке містить дріжджі та молочнокислі бактерії. Кислуватий смак хліба зумовлений молочнокислим бродінням, а спиртове бродіння спричинює утворення пористості хліба.

Молочнокисле бродіння має широке застосування також при силосуванні кормів. Силосування зеленого корму дуже поширене, оскільки цей своєрідний спосіб консервування дає змогу зберігати соковиту рослинну масу за будь-якої погоди. у силосуванні розрізняють три послідовні фази:

а) розвиток мішаної мікрофлори;

б) домінантний розвиток молочнокислих бактерій (головне бродіння);

в) припинення розвитку молочнокислих бактерій внаслідок накопичення молочної кислоти і зниження рН до 4-4,2. Отже, у третій фазі настає консервація силосу. Герметизація і кислотність силосу є основними факторами, які визначають його стійкість під час зберігання.

Та насамкінець, гетероферментативні молочнокислі бактерії (L. Delbrueckii і S. Lactis) використовують у виробництві молочної кислоти, яка використовується в кондитерській промисловості, у виробництві безалкогольних напоїв, в медицині. Деякі з них утворюють антибіотик низин.

Багато мезофільних гетероферментативних паличко видних бактерій та лейконосток шкодять у виробництві спирту, пива, вина, безалкогольних напоїв та цукру.

Пропіоновокисле бродіння.

Пропіоновокисле бродіння— процес перетворення цукру або молочної кислоти на пропіонову кислоту, оцтову кислоту, CO_2 і H_2O . Збудники цього бродіння належать до роду *Propionibacterium*. Це нерухомі, грампозитивні, неспороносні палички, дуже близькі до молочнокислих бактерій і часто разом з ними розвиваються. Вони є факультативними анаеробами; крім цукрів, можуть зброджувати піровиноградну кислоту, гліцерин та деякі інші сполуки. Зброджування вуглеводів відбувається за схемою гліколізу до піровиноградної кислоти. Залежно від умов остання може окислюватися до CH_3COOH і CO_2 , відновлюватися до молочної кислоти, карбоксилуватися до щавлевооцтової. Пропіонова кислота може утворюватися або відновленням піровиноградної і молочної, або декарбоксилуванням янтарної кислоти.

Цінними властивостями пропіоновокислих бактерій є їхня здатність до біосинтезу ціанкобаламіну (вітамін B_{12}). Ця здатність використовується для промислового одержання вітаміну на відходах виробництва (молочна сироватка та інше) з додаванням кукурудзяного екстракту в якості джерела вітаміну. Пропіоновокисле бродіння використовують при виробництві твердих сирів (дозрівання). В результаті утворення оцтової та пропіонової кислоти, які надають сирам кисо-гострий смак, а вуглекислий газ, який при цьому виділяється утворює «глазки» в сирові.

Маслянокисле бродіння.

Типовими збудниками маслянокислого бродіння є маслянокислі бактерії, які належать до роду *Clostridium*. Маслянокислі бактерії — облігатні (строгі) анаероби, утворюють спори, які витримують кип'ятіння протягом кількох хвилин. Вони чутливі до кислотності середовища, оптимальне для них $\text{pH} = 7,0 - 7,3$. Як джерело вуглеводів ці бактерії можуть використовувати моно- і дисахариди, а деякі— полісахариди (крохмаль, декстрин тощо). Маслянокисле бродіння, як і наведені вище види бродіння, відбувається за схемою гліколізу до утворення ПВК, яка декарбоксилується з утворенням оцтового альдегіду. Далі молекули оцтового альдегіду під дією ферменту карболігази конденсуються, і з двох молекул утворюється ацетальдоль (альдегід оксимасляної кислоти), який завдяки внутрішньомолекулярній перебудові перетворюється на масляну кислоту.

Маслянокисле бродіння має дуже велике значення у природі. Збудники його беруть безпосередню участь у процесах мінералізації органічних решток у ґрунті. Крім того, окремі представники маслянокислих бактерій можуть засвоювати атмосферний азот. Це *C. pasteurianum*, вперше виділений у чисту культуру С.М.Виноградським у 1893 р.

Маслянокисле бродіння застосовують і для виробництва масляної кислоти, яку широко використовують у промисловості. Ефіри масляної кислоти мають приємний аромат. Наприклад: метиловий пахне яблуком, етиловий — грушею, аміловий ефір — ананасом. Їх використовують як ароматичні речовини в кондитерській і парфумерній промисловостях.

Проте маслянокисле бродіння може завдати й значної шкоди, зумовлюючи гниття картоплі та інших овочів, псування сиру, консервів, а також квашених овочів, силосу тощо.

Бродіння пектинових речовин

В рослинах, особливо в плодах, ягодах ат коренеплодах, міститься багато пектинових речовин. Вони входять до складу внутрішніх пластинок та склеюють між собою рослинні клітинки. Пектинові речовини високомолекулярні сполуки (полісахариди), тому, щоб потрапити в мікробну клітинку, вони повинні попередньо пройти процес ферментативного гідролізу. Під впливом пектолітичних ферментів мікроорганізмів, які розвиваються в рослинному середовищі та продуктах цього переробки, відбувається ступеневий гідроліз пектинових речовин.

Ферментативний гідроліз мікроорганізмам енергії не дає. В анаеробних умовах вони її одержують в процесі маслянокислого бродіння. Бродіння відбувається за участі певного виду маслянокислих бактерій. Розклад пектинових речовин призводить до псування продуктів: наприклад солоні огірки розм'ягчаються або в них з'являються пустоти.

5.3 Окислення

Окислення етилового спирту

Аеробні процеси проходять за участі хемогетеротрофів в присутності молекулярного кисню, але на відміну від аеробного дихання (повного окислення), є процесом неповного окислення.

Окислення етилового спирту оцтовокислими бактеріями був відомий людям з глибокої давнини – в залишеному на повітрі вині чи пиві через деякий час з'являється легке помутніння, а на поверхні - щільна плівка. При цьому вино чи пиво закисає та перетворюється на оцт.

Окислення етилового спирту оцтовокислими бактеріями відбувається в два етапи – спочатку утворюється оцтовий альдегід, який в подальшому окисляється до оцтової кислоти.

Оцтовокислі бактерії – строгі анаероби. Вони окислюють не лише одноатомний етиловий спирт, але і багатоатомні. Так шестиатомний спирт

сорбіт вони окислюють до сорбози, яка є сировиною для хімічного синтезу аскорбінової кислоти.

Оцтовокислі бактерії - це в основному короткі рухливі палички однічні, попарні, або з'єднані в ланцюжки, ендоспор не утворюють, грам негативні. Вони віднесені до двох видів *Glucobacter* і *Acetoacter*. Перші - це палички з пучком полярних джгутиків (лофотрихи), другі – це палички з джгутиками по всій поверхні клітини (перитрихи).

Оцтовокислі бактерії широко розповсюджені в природі, перебувають на квітах, дозрілих овочах, фруктах, ягодах, знайдені в садовому ґрунті, в повітрі.

В промисловості використовують для виробництва спиртового натурального оцту. Крім спиртового натурального оцту виготовляють винний, яблучний оцет з відповідної сировини.

Оцтовокислі бактерії грають і негативну роль, як шкідники спиртового виробництва, пивоваріння, дріжджового виробництва та консервного в виноробстві, у виробництві безалкогольних напоїв тощо.

Окислення вуглеводів міцеліальними грибами

Неповне окислення вуглеводів молекулярним киснем з утворенням органічних кислот (лимонної, щавелевої та інші) можуть здійснювати міцеліальні гриби, які як і оцтовокислі бактерії, є строгими аеробами.

Найбільше практичне значення має процес одержання лимонної кислоти, яку раніше одержували із соку лимонів, а зараз за допомогою гриба *Aspergillus niger*. Фізіологію грибів та хімізм процесу детально вивчали С.П. Костичев та В.С.Буткевич, завдяки чому в 1930 році в Ленінграді було налагоджено виробництво лимонної кислоти на підприємстві.

Лимонну кислоту одержують, як поверхневим так і глибинним способом. Для поверхневого способу сировиною слугують відходи цукрового виробництва – меласа, при окисленні цукрі якої утворюється лимонна кислота:



Міцелій гриба розвивається у вигляді плівки на поверхні поживного середовища, налітої невеликим шаром (8-12 см) в кювети, які засівають спорами грибів (конідіями). Процес утворення лимонної кислоти в середовищі під плівкою міцелія гриба продовжується 6-8 діб за температури 30°С при постійній аерації (продуванні повітря). Потім лимонну кислоту виділяють з розчину та кристалізують. Виробництво лимонної кислоти глибинним методом здійснюють зазвичай в герметично закритих ферментаторах при постійній аерації та перемішуванні. Міцелій гриба у цьому випадку розвивається у вигляді дрібних кульок.

Лимонна кислота має широке практичне застосування в кондитерській та консервній промисловості, у виробництві безалкогольних напоїв, в медицині в якості консерванта.

Окислення жирів та вищих жирних кислот.

Жири – це складні ефіри вищих жирних кислот та гліцерину, це високомолекулярні сполуки тому в натівному стані проникнути всередину клітини не можуть. Тому спочатку відбувається гідроліз жиру за участі ферментів – ліпази, що є в наборі багатьох мікроорганізмів. В результаті гідролізу утворюються гліцерин та вищі жирні кислоти. Цей процес не забезпечує мікроорганізми енергією, а подальший розклад продуктів йде з виділенням енергії.

Гліцерин швидко окисляється, наприклад за допомогою оцтовокислих бактерій до діоксиацетону. Міцелі альні гриби окислюють гліцерин повністю до вуглекислого газу та води. Маслянокислі бактерії зброджують до масляної кислоти. В результаті цих процесів мікроорганізми одержують енергію.

Вищі жирні кислоти окисляються важче та повільніше. Вони спочатку просто збираються в субстраті а потім поступово окисляються до вуглекислого газу та води. Цей процес супроводжується виділенням енергії. В процесі окислення вищих жирних кислот утворюються різні проміжні продукти - кетони, альдегіди, окисикислоти тощо, які надають жиру що окислюється неприємного запаху та прогірклий смак.

Найбільш активну участь в перетворенні жирів приймають деякі бактерії з роду псевдо монад. Це рухливі Монотрих), аеробні грам позитивні палички, що не утворюють спор, деякі з них можуть виділяти зелений пігмент, інші відносяться до психрофітів та розвиваються за низьких температур (0°). В розкладі жирів приймають участь й інші бактерії, а також міцелі альні гриби(деякі види аспергилів, пеніциліні, молчна пліснява).

В харчовій промисловості мікроорганізми, що окисляють жири, завдають шкоду, викликаючи псування харчових жирів та жиру, що міститься в різних продуктах (рибних, молочних, круп'яних, в консервах тощо) Псування жирів, що зберігаються в холодильниках викликають психрофіти.

Розклад жирів відмерлих тварин та рослин в природних умовах (в ґрунті, воді) відбувається постійно та має важливе значення в коловороті вуглецю.

Питання для самоконтролю.

1. Які види бродіння визнаєте та які їх загальні риси ?
2. Перелічіть практичне значення кожного типу бродіння.
3. Які основні процеси окислення вам відомі та як вони використовуються в харчовій промисловості?

ТЕМА 6. ПЕРЕТВОРЕННЯ СПОЛУК АЗОТУ **МІКРООРГАНІЗМАМИ**

План

1. Розклад білкових речовин мікроорганізмами.
2. Процеси перетворення сполук азоту.
3. Азотфіксуючі мікроорганізми.
4. Бульбочкові бактерії

6.1 Розклад білкових речовин мікроорганізмами

Крім розглянутих вище мікробіологічних процесів перетворення органічних вуглецевмісних сполук, велике значення мають перетворення органічних азотовмісних речовин.

У природі постійно відбувається кругообіг азоту, в якому беруть участь рослини, тварини і мікроорганізми. Це досить складний процес.

Деяка частина атмосферного азоту зв'язується вільноживучими і симбіотичними мікроорганізмами. Цей процес збагачує ґрунт і рослини азотом. Органічні рештки рослинних і тваринних організмів, які потрапляють у ґрунт, розкладаються (мінералізуються) амоніфікуючими мікробами і перетворюються на амонійні сполуки — аміак та інші.

Амонійна форма азоту в ґрунті далі окислюється нітрифікуючими бактеріями і перетворюється на сполуки азотистої і азотної кислот (нітрити і нітрати). За певних умов нітрати і нітрити під впливом денітрифікуючих бактерій можуть відновлюватися до молекулярного азоту (денітрифікація), в результаті чого зберігається відносна рівновага між вмістом молекулярного азоту в атмосфері і зв'язаним азотом ґрунту, рослин і тварин.

Отже, коли зіставити кількість амонійного, нітритного і нітратного азоту, який потрапляє в ґрунт у результаті фотохімічних процесів і електричних розрядів в атмосфері, з тією кількістю, що вноситься в ґрунт завдяки його фіксації мікроорганізмами, то стає зрозумілою виняткова важливість цього процесу на нашій планеті. Адже загальна продуктивність мікробної фіксації азоту становить від 270 до 330 млн. т на рік. Мал.24



Гнильні процеси. Гниття - це процес глибокого розкладання білкових речовин мікроорганізмами. Одним з кінцевих продуктів розкладання білків є аміак (NH_3), тому процес гниття називають також *амоніфікацією білкових речовин*, а бактерії - гнильними або амоніфікаторами.

Білки, подібно до інших високомолекулярних сполук, в незмінному вигляді всередину бактеріальної клітини проникнути не можуть, а тому спочатку піддаються розщепленню поза клітиною під впливом мікроорганізмів, що володіють протеолітичними ферментами, які за характером дії є екзоферменти. Розщеплення білків відбувається поступово:

Білки $\rightarrow$ Пентони $\rightarrow$ Поліпептиди $\rightarrow$ Амінокислоти

Подальша доля утворилися при розщепленні білків амінокислот різна. Вони дифундують всередину клітини і можуть використовуватися мікроорганізмами або в будівельному(конструктивному) обміні для біосинтезу білків клітини або як джерело вуглецю і азоту, або піддаються дезамінуванню або декарбоксилюванню.

Дезамінування амінокислот призводить до відщеплення аміногрупи, з якої утворюється аміак і накопичення органічних кислот жирного ряду - масляної, оцтової, пропіонової, мурашиної та ін. оксикислот, кетокислот, а також високомолекулярних спиртів. Проміжні продукти розпаду амінокислот зазнають різні перетворення в залежності від виду бактерій і умов, в яких протікає процес гниття.

Аеробні мікроорганізми здійснюють їх повне окислення до мінеральних речовин і в якості кінцевих продуктів утворюються, крім аміаку, вуглекислота (весь вуглець білкових речовин виділяється у вигляді CO_2), Вода, а також сірководень і іноді меркаптани, що володіють запахом тухлих яєць. Сірководень і меркаптани утворюються з серусодержащих амінокислот -

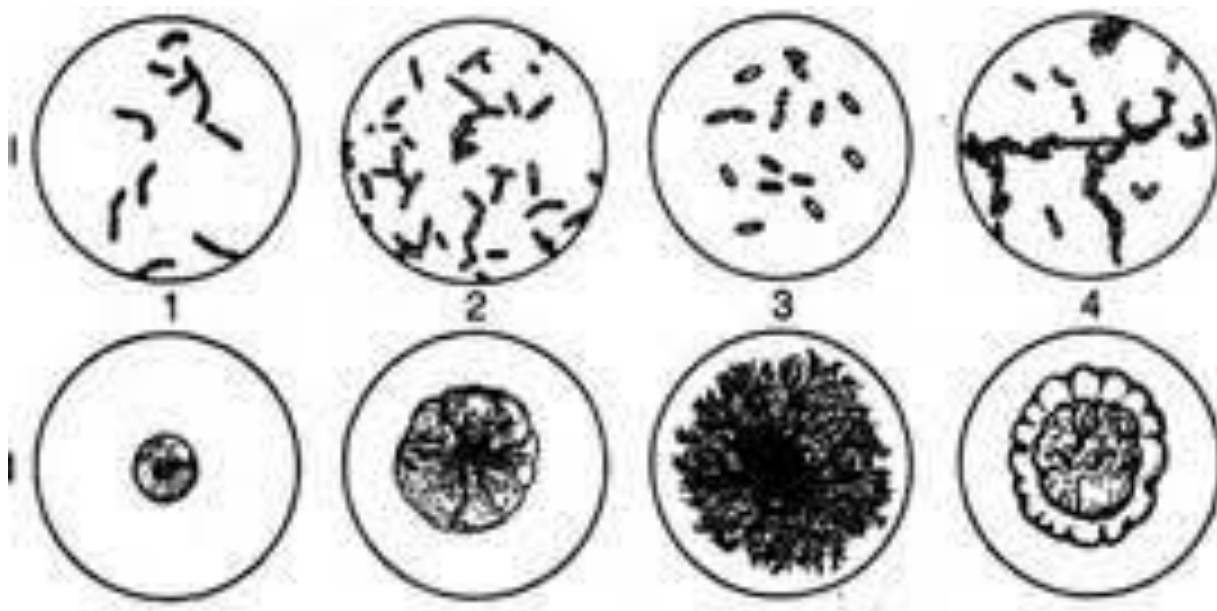
цистину, цистеїну, метіоніну. У разі гнильного розпаду нуклеопротейдів утворюються солі фосфорної кислоти.

В анаеробних умовах не може відбуватися повного окислення проміжних продуктів розпаду амінокислот і вони накопичуються в середовищі. Крім того, в анаеробних умовах відбувається декарбоксилювання амінокислот (тобто їх розкладання з виділенням CO_2). При цьому утворюються смердючі речовини: індол, скатол, фенол, крезол; індол і скатол утворюються зазвичай з триптофану. При декарбоксилюванні амінокислот утворюються діаміни - кадаверин (з лізину) та аміни - путресцин (з орнітина). Їх похідні - нейрін, мускарин, сепсін, гадалін, є трупними отрутами, що володіють отруйною дією, і можуть викликати отруєння.

Збудниками гниття в основному є бактерії. До аеробних гнильних бактерій відносяться в основному спорообразуючі паличкоподібні бактерії - *Bacillus subtilis* (сінна паличка), *B. mycoides*, *B. megaterium* (рис.5.5). Неспороутворюючими аеробними амоніфікаторами є пігментообразуючі паличка *Pseudomonas fluorescens*, що володіє не тільки протеолітичними ферментами, але і ліпазою. Вона є псіхрофілов, викликає псування продуктів містять білки і жири при зберіганні продуктів в охолоджену стані.

До факультативно-анаеробних амоніфікаторів відносяться неспорообразуючі паличкоподібні бактерії *Proteus vulgaris* (вульгарний протей) і *Escherichia coli* (кишкова паличка). До строгих анаеробів, що викликають процес гниття відносяться спороутворюючі паличкоподібні бактерії *Clostridium putrificum*, *Clostridium sporogenes*.

Амоніфікація гумусних сполук – процес дуже повільний. Наприклад, у помірному кліматі протягом року розкладається приблизно 1-3% загального запасу ґрунтового гумусу. Амоніфікацію гумінових речовин можна зобразити спрощеною схемою: гумінові речовини + $\text{O}_2 = \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{NH}_3$. У цьому важливому процесі беруть участь аеробні і анаеробні мікроорганізми.



Мал.25. Найпоширеніші спороносні бактерії-амоніфікатори та їхні колонії:

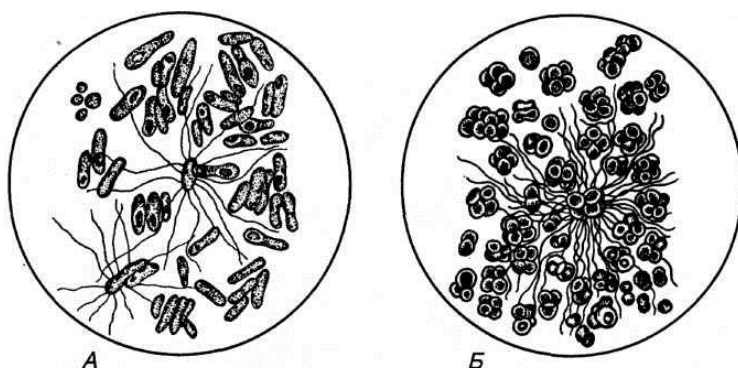
1 палички; II- колонії (1- *B. Megaterium*; 2- *B. Subtilis*; 3- *B. mycoides*; 4 – *B. mesentericus*)

Значення процесу гниття. Гнильні бактерії є шкідниками багатьох харчових продуктів, що володіють високою харчовою цінністю - м'яса і м'ясопродуктів, риби і рибопродуктів, молока, яєць і ін.

У природі (у воді, ґрунті) активно розкладаються відмерлі тварини і рослини, мінеральні білкові речовини і тим самим відіграють важливу роль у кругообігу вуглецю та азоту.

6.2. Процеси перетворення сполук азоту.

Гідроліз сечовини. До поширених у природі азотовмісних сполук належать також сечовина, сечова і гіпурова кислоти, які містяться в сечі людини і тварин. Сечовина може синтезуватись також грибами. Наприклад, у шампінйонів до 13 % сухої маси припадає на сечовину. Розклад сечовини у ґрунті зумовлює особлива група уробактерій. Найенергійнішими збудниками цього процесу є *Micrococcus ureae*, *Sporosarcina ureae*, *Bacillus pasteurii* (мал. 26).

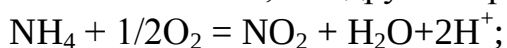


Мал. 26. Уробактерії: А — *Bacillus pasteurii*; В — *Sporosarcina ureae*.

Уробактерії здебільшого належать до аеробів, добре розвиваються при pH = 9. Виділяючи фермент уреазу, ці бактерії перетворюють сечовину на аміак і вуглекислий газ. Фізіологічний смисл розкладу сечовини зводиться до переведення амінової форми азоту в аміачну, яка легше засвоюється рослинами.

Другим етапом перетворення азоту в ґрунті є *нітрифікація*. Аміак, який утворюється при розкладі органічних речовин у ґрунті, воді та інших середовищах, досить швидко окислюється до азотистої, а потім азотної кислот. Цей процес і дістав назву нітрифікації. У 1890-1892 рр.С.М.Виноградський, застосувавши розроблену ним методику елективних культур, виділив чисту культуру бактерій цього процесу.

До дослідів С. М. Виноградського припускалось, що причиною нітрифікації є один вид мікроорганізмів, які окислюють амонійні сполуки до нітратів. Проте працями С. М. Виноградського було доведено, що цей процес є результатом послідовної дії двох груп мікроорганізмів і відбувається він у дві фази, а саме: спочатку амонійні сполуки окислюються першою групою бактерій до азотистої кислоти, яка другою групою бактерій окислюється до азотної:



Першу фазу нітрифікації здійснюють нітробактерії (Nitrosomonas, Nitrosocystis, Nitrosolobus, Nitrosospira, Nitrosovibrio). У другій фазі нітрифікації азотисту кислоту окислюють Nitrobacter, Nitrospira, Nitrococcus. Найкраще серед нітрифікаторів вивчено Nitrobacter winogradskyi, однак описано й інші види збудників цього процесу, серед деяких є навіть гетеротрофні представники з родів Pseudomonas, Achromobacter, Corynebacterium, Nocardia, Bacillus тощо.

Нітрифікуючі бактерії переважно належать до типових хемолітотрофів. Між ними існують метаболітичні взаємовідносини. Саме етапність процесу нітрифікації є характерною рисою таких взаємовідносин між мікроорганізмами. Метабіоз існує також між нітрифікуючими і гнильними (амоніфікуючими) бактеріями. Як уже зазначалось, у нітрифікуючих та інших хемолітотрофних бактерій С.М.Виноградським було відкрито процес хемосинтезу.

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

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

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

Нітрати, які утворюються в ґрунті, використовуються не тільки рослинами, а й окремими видами мікроорганізмів.

Особлива роль при цьому належить групі мікробів, які можуть відновлювати нітрати до молекулярного азоту; цей процес називається *денітрифікацією*. Він спричиняється до істотних втрат із ґрунту доступних для рослин форм азоту.

Розрізняють пряму і непряму денітрифікацію. Пряма — це процес відновлення нітратів, безпосередньо пов'язаний із життєдіяльністю денітрифікуючих бактерій. Вона буває двох типів — асиміляторна і дисиміляторна. При асиміляторній денітрифікації нітрати відновлюються до аміаку, який використовується як джерело азоту для побудови тіла мікробів. У дисиміляторній денітрифікації нітрати використовуються як окислювачі органічних речовин замість молекулярного кисню, що забезпечує мікроорганізми потрібною енергією (див. нітратне дихання). Здатність до дисиміляторної денітрифікації мають тільки специфічні аеробні бактерії.

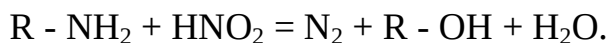
Збудниками прямої асимільаторної денітрифікації є представники родів *Pseudomonas*, *Paracoccus* (*Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas stutzeri*, *Paracoccus denitrificans*). Денітрифікацію можуть зумовити і термофільні бактерії з роду *Bacillus*.

Денітрифікуючі бактерії використовують нітрати як акцептор водню при відсутності O_2 для окислення органічних речовин. У присутності нітратів денітрифікатори ростуть анаеробно, а без них — аеробно.

Відновлювати нітрати можуть також деякі хемолітоавтотрофи, зокрема *Thiobacillus denitrificans*, яка розмножується в анаеробних умовах і є сіркоокислюючою бактерією.

Початковий етап відновлення нітратів при дисимільаторній денітрифікації каталізується ферментом нітратредуктазою, який утворюється в мікробній клітині під впливом нітратів тільки в анаеробних умовах.

Крім прямої денітрифікації, в ґрунті може відбуватися і непряма. У цьому разі молекулярний азот виділяється внаслідок суто хімічних реакцій між азотистою кислотою і амініми або амідними сполуками:



Денітрифікація збіднює ґрунт на мінеральні форми азоту. Особливо помітні втрати азоту в процесі денітрифікації спостерігаються, зокрема, в перезволожених ґрунтах.

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

Процеси зв'язування молекулярного азоту атмосфери мікроорганізмами мають винятково велике значення в азотному балансі ґрунту, підвищуючи значною мірою його родючість.

6.3. Азотфіксуючі мікроорганізми.

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

Другий шлях фіксації молекулярного азоту пов'язаний з життєдіяльністю мікроорганізмів, що належать до двох груп: мікроби, які перебувають у симбіозі з рослинами, та азотфіксатори, що вільно живуть у ґрунті та воді.

В 1893 р. С. М. Виноградський вперше виділив і вивчив вільноживучий азотфіксатор — анаеробну спороносну бактерію веретеноподібної форми, яку було названо на честь Л. Пастера — *Clostridium pasteurianum*.

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

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

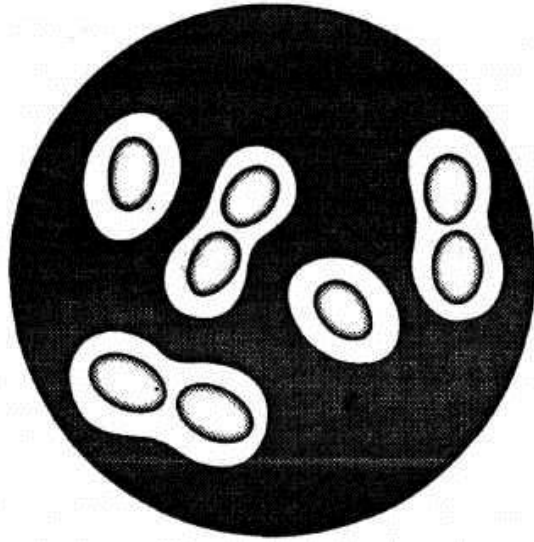
Іншим дуже поширеним вільноживучим азотфіксатором є аеробна, овальної форми, бактерія — *Azotobacter chroococcum*, відкрита у 1901 р. М. Бейєрінком. Розмір клітин азотобактера коливається в межах 2—3 х 4—6 мкм. Він розмножується простим поділом з утворенням поперечної перегородки. Молоді клітини азотобактера рухливі, перетрихи з віком втрачають рухливість, набувають майже коковидної форми і покриваються товстим шаром слизу (капсулою). Іноді клітини азотобактера можуть бути вкритими товстою оболонкою і перетворюватися на цисти.

Серед представників азотобактера найґрунтовніше вивчено *A. Chroococcum*, *A. vinelandii*, *A. agilis*, *A. beijerinckii* (рис. 3). Ці види різняться за формою і розмірами клітин, пігментацією колоній.

На відміну від клостридія азотобактер інтенсивніше зв'язує молекулярний азот. Активні культури азотобактера зв'язують 15—20 мг азоту на 1 г використаного цукру або іншої органічної речовини. Він не засвоює клітковини. Однак при наявності її в ґрунті розмножується більш інтенсивно, оскільки між целюлозорокладачами і азотобактером існує явище

метабіозу. Азотобактер потребує нейтрального середовища. В кислих ґрунтах він не розвивається

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



Мал. 27. Азотобактер (*Azotobacter chroococcum*)

Серед вільноживучих азотфіксуючих бактерій слід згадати про види роду *Derxia* і *Azotomonas fluorescens*.

Пошуки вільноживучих азотфіксаторів дали змогу виявити їх і в інших родин — *Spirillaceae*, *Rhizobiaceae*, *Achromobacteriaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Bacillaceae* та ін. Здатність до фіксації молекулярного азоту мають анаеробні пурпурні та зелені фототрофні бактерії, що живуть у заболочених озерах і мулі, деякі мікобактерії, спірохети, проактиноміцети і навіть окремі види грибів, у тому числі дріжджі. Використання методу мічених атомів дозволило підтвердити припущення, висловлене ще в 1889 р., про те, що одна з найбільших груп мікроорганізмів, які населяють ґрунти, — мікроскопічні водорості — можуть засвоювати атмосферний азот. Серед них близько 40 видів синьозелених водоростей. До найпоширеніших належать *Anabaena*, *Amorpha-nostoc*, *Aulosira*, *Calothrix*, *Nostoc*, *Scytonema* тощо.

В Японії використання штучного зараження ґрунтів синьозеленими водоростями *Tolypothrix tenuis* виявилось ефективним при вирощуванні рису. Подібних результатів досягли також в Індії від застосування на рисових полях синьозелених водоростей — *Aulosira fertilisima*.

Досліди, проведені в Інституті мікробіології Російської АН, показали, що синьозелені водорості (ціанобактерії) під час інтенсивного розвитку можуть нагромаджувати за вегетаційний період до 50—70 кг азоту на 1 га.

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

Азотфіксуюча активність виявлена у представників багатьох родів ризосферних бактерій: *Agrobacterium*, *Achromobacter*, *Aquaspirillum*, *Azospirillum*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Enterobac-*

ter, Erwinia, Flavobacterium, Klebsiella, Mycobacterium, Pseudomonas, Rhodospirillum та ін.

6.4. Бульбочкові бактерії

Відомо, що вирощування бобових рослин підвищує родючість виснажених ґрунтів. Першу спробу з'ясувати причину цього зробив у 1838 р. французький агрохімік Ж.Бусенго. У своїх дослідках з конюшиною і горохом, добрий урожай яких було вирощено при невеликій кількості азоту в піщаному ґрунті, він припустив, що висока врожайність бобових рослин пов'язана з їхньою здатністю асимілювати атмосферний азот. При повторному досліді у 1858 р. Ж.Бусенго дістав протилежні наслідки, цього разу він прожарював пісок і поливав рослини тільки дистильованою водою, бажаючи видалити сліди азотних сполук. Проте Ж.Бусенго не здогадувався, що так він знищує мікроорганізми в піску.

Тільки через 30 років німецькі дослідники Г.Гельрігель і Г.Вільфарт розкрили причину невдачі цього видатного вченого. Їм вдалося довести, що бобові рослини, посіяні в прожарений пісок (де вбито всіх мікробів), не утворюють бульбочок на коренях і не можуть фіксувати молекулярний азот атмосфери. Тоді вже було відомо, що в бульбочках на коренях бобових рослин міститься дуже багато бактерій.

Ще в 1858 р. І.Лахман, а дещо пізніше М.С.Воронін, незалежно один від одного, відкрили наявність мікробних клітин у бульбочках бобових рослин. У 1888 р. голландський мікробіолог М. Бейєрінк вперше виділив у чистій культурі бактерії з бульбочок гороху, квасолі, віки та інших культур.

У природі постійно відбувається кругообіг азоту, в якому беруть участь рослини, тварини і мікроорганізми. Це досить складний процес.

Деяка частина атмосферного азоту зв'язується вільноживучими і симбіотичними мікроорганізмами. Цей процес збагачує ґрунт і рослини азотом. Органічні рештки рослинних і тваринних організмів, які потрапляють у ґрунт, розкладаються (мінералізуються) амоніфікуючими мікробами і перетворюються на амонійні сполуки — аміак та інші.

Амонійна форма азоту в ґрунті далі окислюється нітрифікуючими бактеріями і перетворюється на сполуки азотистої і азотної кислот (нітрити і нітрати). За певних умов нітрати і нітрити під впливом денітрифікуючих бактерій можуть відновлюватися до молекулярного азоту (денітрифікація), в результаті чого зберігається відносна рівновага між вмістом молекулярного азоту в атмосфері і зв'язаним азотом ґрунту, рослин і тварин.

Отже, коли зіставити кількість амонійного, нітритного і нітратного азоту, який потрапляє в ґрунт у результаті фотохімічних процесів і електричних розрядів в атмосфері, з тією кількістю, що вноситься в ґрунт завдяки його фіксації мікроорганізмами, то стає зрозумілою виняткова важливість цього процесу на нашій планеті. Адже загальна продуктивність мікробної фіксації азоту становить від 270 до 330 млн. т на рік.

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

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

Старіючи, бульбочкові бактерії втрачають джгутики, перестають бути рухливими і набувають вигляду оперезаних паличок, оскільки з віком бактеріальна клітина наповнюється жировими включеннями, які не забарвлюються. Зі старінням у бульбочках культури *Rhizobium* часто виникають потовщені, розгалужені, сферичні та іншої форми утворення, які значно більші за звичайні клітини. Ці поліморфні утворення дістали назву бактероїдів (мал. 28). Вони нерухомі і не здатні до розмноження. Проте найбільш енергійно відбувається засвоєння азоту в бульбочках саме тоді, коли бульбочкові бактерії перетворюються на бактероїди.

Бульбочкові бактерії можуть асимілювати різні вуглеводи, органічні кислоти і багатоатомні спирти. Як джерело азоту їм доступні амінокислоти. Для більшості культур *Rhizobium* оптимальне значення рН середовища дорівнює 6,5-7,5, а оптимальна температура становить 24—26 °С.

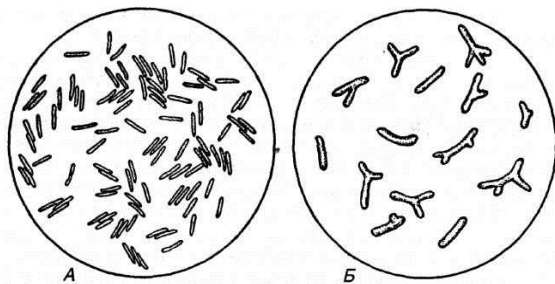
Встановлено, що бульбочкові бактерії можуть заражати лише певну групу бобових рослин. Вибіркова здатність цих бактерій відносно рослин дістала назву специфічності. Ця властивість стала головною ознакою для розробки систематики бульбочкових бактерій.

За Л.М.Доросинським, рід *Rhizobium* поділяють на такі групи: *R. leguminosarum* — бактерії гороху, вики, кормових бобів, чини; *R. phaseoli* — квасолі; *R. japonicum* — сої; *R. vigna* — вігни, арахісу, машу; *R. cicer* — нугу; *R. lupini* — люпину, серадели; *R. trifolii* — еспарцету; *R. lotus* — лядвенцю; *R. robinii* — акації.

В окремих випадках спостерігається не тільки видова, а й сортова специфічність бульбочкових бактерій. Крім специфічності, цим бактеріям властива вірулентність — здатність проникати в тканину кореня, розмножуватися там і спричиняти утворення бульбочок. За певних умов ці бактерії можуть знижувати або зовсім втрачати активність.

Істотною властивістю бульбочкових бактерій є також їхня активність, тобто здатність у симбіозі з рослинами асимілювати молекулярний азот. У ґрунті трапляються штами активних і неактивних бульбочкових бактерій. Зараження бобових рослин активною расою бактерій веде до утворення великої кількості бульбочок на головному корені та зумовлює енергійний

процес фіксації атмосферного азоту. Неактивні раси цих бактерій спричиняють утворення бульбочок, але азот не фіксується.



Мал. 28. Бульбочкові бактерії з роду *Rhizobium*:

А — клітини, виділені з бульбочок конюшини; X 15 000-25 000 (за Зільгером); Б — бактероїди з бульбочок конюшини

Бульбочки, які утворюються активними расами бактерій, мають рожеве забарвлення. Пігмент, що надає їм такого забарвлення, за хімічним складом близький до гемоглобіну крові та називається леггемоглобіном (фітоглобін). Вважають, що цей пігмент сприяє процесу засвоєння азоту, підтримуючи окислювально-відновний потенціал на певному рівні. Бульбочки, які утворюють неактивні раси бактерій, мають зеленкуватий колір.

Механізм проникнення бактерій у кореневий волосок досі ще недостатньо вивчено. Встановлено, що на поверхні клітинної оболонки бобових рослин є особливий вид білка, до якого вибірково "приклеюються" специфічні бульбочкові бактерії завдяки наявності в їхній оболонці специфічного ліпополісахариду. Припускають, що саме у відповідь на появу цього ліпополісахариду на оболонці кореневого волоска з'являється білок лектин, який зв'язує полісахариди оболонки ризобіїв. Це своєрідний механізм "впізнавання" перед виникненням бобово-ризобіального симбіозу.

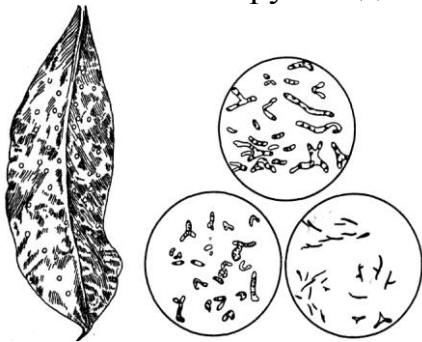
Після проникнення бактерій у клітину кореневого волоска вони починають посилено розмножуватись і утворюють суцільний тяж, так звану інфекційну нитку (слизовий тяж), в якій скупчується величезна кількість бульбочкових бактерій. Останні можуть розмножуватись тільки в тетраплоїдних клітинах рослин.

Як в інфікованих бактеріями, так і в сусідніх клітинах починається активний поділ, і утворюються бульбочки. В однорічних рослин бульбочки є тимчасовим утворенням. У багаторічних вони можуть функціонувати протягом кількох років. Контакт бактерії з рослиною встановлюється через судинні пучки, які обплітають тканину бульбочки. Провідними шляхами до бульбочок надходять вуглеводи та інші поживні речовини, де вони використовуються бактеріями, а рослина одержує із бульбочок зв'язані сполуки азоту. Доведено, що найінтенсивніша віддача зв'язаного азоту із тканин бульбочки відбувається тоді, коли бактероїди перебувають у життєдіяльному стані.

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

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

Окремі бобові культури збагачують ґрунти різною кількістю азоту. При сприятливих умовах симбіозу кількість азоту, який фіксується горохом, за рік сягає 100—300 кг/га, кормовими бобами — 160-200, люпином білим — до 300, люцерною — до 500 кг/га і більше. Бобові рослини нагромаджують до 60 % азоту внаслідок фіксації молекулярного азоту. Решту азоту вони використовують із ґрунту у вигляді мінеральних сполук. Отже, вклад бобових рослин у забезпечення ґрунтів доступними формами азоту досить відчутний.



Мал. 29. Бульбочки на листках Ravetta.

Праворуч — препарат бактерій з бульбочок (за Є.М.Мішустіним, 1968)

Утворення, які нагадують бульбочки, знайдено у багатьох рослин, що не належать до родини бобових. Серед покритонасінних бульбочки виявлено на коренях представників порядків *Cycadales*, *Ginkgoales* і *Coniferales*. У дводольних бульбочки найчастіше бувають у представників родин *Coriariaceae*, *Betulaceae*, *Casuarinaceae* тощо. В окремих випадках їх знаходили на коренях рослин із родин *Brassicaceae*, *Rosaceae*, *Scrophulariaceae* тощо, з однодольних рослин бульбочки описано лише у представників родини *Poaceae*.

Нещодавно з'явилися цікаві дані про те, що бактерії роду *Azospirillum*, які асоціюються з коренями злаків, мають здатність інтенсивно фіксувати азот. Вони поширені в тропічних і помірних кліматичних зонах. Природу збудників, які зумовлюють утворення бульбочок у цих рослин, повністю ще не вивчено. Так, у бульбочках вільхи знайдено актиноміцети.

Досліди з використанням міченого азоту показали, що у більшості рослин із родів вільхи (*Alnus* L.), обліпихи (*Hippophae* L.), лоху (*Elaeagnus* L.) мічений азот зв'язується тільки тоді, коли є бульбочки. Ці дані свідчать про те, що зв'язування молекулярного азоту небобовими рослинами також відбувається в симбіозі з мікроорганізмами.

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

КРУГООБІГ АЗОТУ У СІЛЬСЬКОМУ ГОСПОДАРСТВІ

Таблиця 3

МОЛЕКУЛЯРНИЙ АЗОТ АТМОСФЕРИ (N ₂ , N ₂ O)		
<u>ДЕНІТРИФІКАЦІЯ</u> (газоподібний стан N ₂ , N ₂ O) - пряма: <i>Pseudomonas, Micrococcus</i> - непряма: (реакцій між азотистою кислотою та амінними і амідними сполуками)		<u>Азотфіксація</u> (амінокислоти, нуклеїнові кислоти, білки) Симбіотичні азотфіксатори: родина <i>Rhizobiaceae</i> (роди <i>Rhizobium, Bradyrhizobium, Azorhizobium, Sinorhizobium, Mesorhizobium</i>) Несимбіотичні (асоціативні) азотфіксатори (Вільноіснуючі азотфіксатори): <i>Azotobacter, Clostridium</i> та інші
<u>Нітрифікація</u> 1. Перша фаза нітрифікації: (нітрити NO ₂ ⁻ , азотистої кислоти) <i>Nitrosomonas, Nitrosolobus, Nitrosococcus, Nitrosocystis, Nitrospira</i> 2. Друга фаза нітрифікації: (нітрати NO ₃ ⁻ , азотна кислота) <i>Nitrobacter, Nitrospina, Nitrococcus</i>		<u>АМОНІФІКАЦІЯ</u> (аміачні, амонійні сполуки) <i>Pseudomonas, Clostridium, Bacillus</i>

ІММОБІЛІЗАЦІЯ

процес в результаті якого наявні в ґрунті мінеральні форми азоту внаслідок бурхливого розвитку мікроорганізмів споживаються ними і переводяться в білок цитоплазми, також можуть використовуватись як джерело енергії для розщеплення вуглецевих сполук

Питання для самоконтролю.

1. Що таке кругообіг речовин в природі?
2. Які види бродіння ви знаєте та які їх загальні риси?
3. Які основні процеси окислення вам відомі та яке їх практичне застосування?
4. Які основні етапи колооберту азоту?
5. В чім сутність процесу амоніфікації?
6. Що таке гниття та які мікроорганізми його викликають?
7. Які процеси перетворення мінеральних азотовмісних речовин в ґрунті ви знаєте?

7. ПЕРЕТВОРЕННЯ МІКРООРГАНІЗМАМИ СПОЛУК ФОСФОРУ, СІРКИ І ЗАЛІЗА

План

1. Роль мікроорганізмів в утворені і перетворені сполук сірки і заліза.
2. Перетворення мікроорганізмами сполук фосфору.
3. Перетворення сполук сірки мікроорганізмами.
4. Перетворення сполук заліза.

7.1. Роль мікроорганізмів в утворені і перетворені сполук сірки і заліза

Завдяки дуже високій каталітичній активності мікроорганізми відіграють основну роль в геохімічних перетвореннях в природі. Через свої невеликі розміри бактерії та інші мікроорганізми мають порівняно з вищими рослинами і тваринами високе співвідношення поверхні і об'єму. Це приводить до швидкого обміну субстратів і продуктів виділення між клітиною і зовнішнім середовищем.

Висока інтенсивність дихання аеробів і велика швидкість розмноження, дивовижна здатність розщеплювати найрізноманітніші сполуки зумовлюють важливість ролі, яку мікроорганізми відіграють у природі. Циклічні перетворення елементів, з яких побудовані живі організми, в сукупності становлять кругообіг речовин. На різних етапах циклів у них беруть участь різні організми, однак вклад мікроорганізмів особливо важливий як у кількісному, так і в якісному відношенні. Мікроорганізми «... виконують у біосфері величезну геохімічну роботу, як розкладаючи ці сполуки, так і створюючи, в результаті цього розкладу, нові синтези, їхня роль значна в історії вуглецю, сірки, азоту, заліза, марганцю і багатьох інших елементів нашої планети», — писав перший президент НАН України академік В. І. Вернадський.

Lecture

Ідеї В.І.Вернадського про те, що мікроорганізми є могутнім агентом у трансформації різних речовин, а також у концентрації окремих елементів із розсіяного стану, одержали повне визнання. Добре відомо, що в біологічний кругообіг утягнуті всі хімічні елементи, які входять до складу живих організмів. Важливо розглянути не тільки перетворення мікробами сполук вуглецю й азоту, але й фосфору, сірки і заліза.

7.2. Перетворення мікроорганізмами сполук фосфору

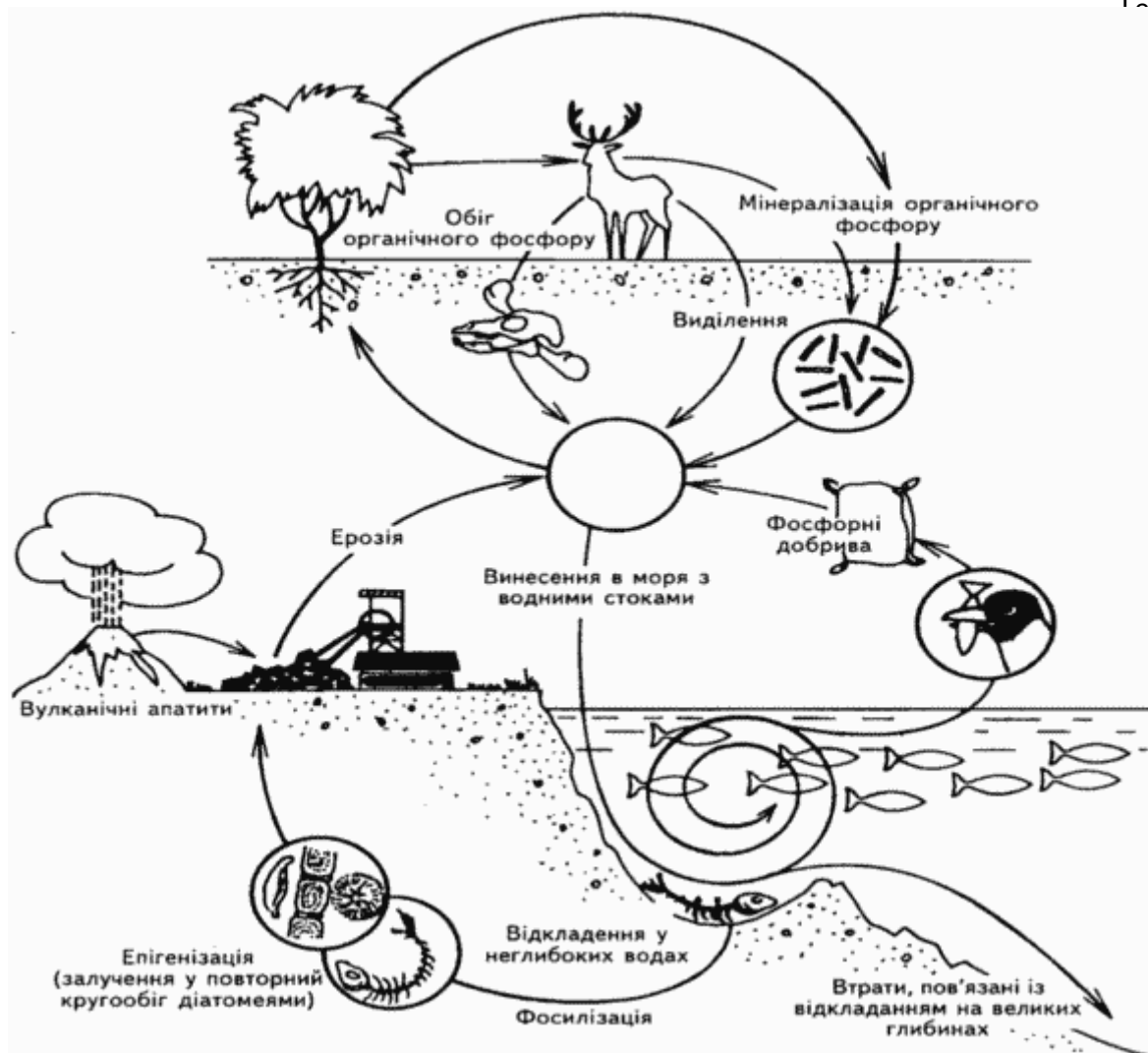
По значенню для рослин фосфор займає друге місце після азоту. Він є в ґрунті, рослинах та в мікроорганізмах у органічних та неорганічних сполуках.

З хімічної точки зору кругообіг фосфору є досить простим, оскільки цей елемент трапляється в живих організмах тільки в п'ятивалентному стані у вигляді вільних фосфатних іонів (PO_4^{3-}) або у вигляді органічних фосфатних компонентів клітини. Фосфор входить до складу нуклеїнових кислот, нуклеотидів, фосфопротеїнів, АТФ, лецитину, фітину, сполук гумусу тощо. Отже, фосфор перебуває в неорганічній і органічній формах у ґрунті, рослинах і мікробах.

У ґрунті фосфор може бути в різних формах:

1) він входить у структуру первинних мінералів і зустрічається у формі фосфатів кальцію (апатити, оксиапатити, фторапатити, фосфорити), фосфатів або оксифосфатів заліза (вівіаніт);

2) від 25 до 85% загального фосфору в різних ґрунтах перебуває в органічній формі. Органічний фосфор становить від 0,5 до 2% кількості органічної речовини ґрунту. Фосфор входить до складу фітину й інших інозитфосфатів, нуклеїнових кислот і нуклеотидів, лецитину й гумусових сполук.



Мал 30. Кругообіг фосфору в природі.

У ґрунт сполуки фосфору надходять із рослинними й тваринними залишками, а також з мінеральними добривами. Сільськогосподарські рослини містять у своїх тканинах від 0,05 до 0,65% фосфору. У рослин (як і у тварин) цей елемент перебуває у формі органічних сполук (фітин, фосфоліпіди, нуклеїнові кислоти і т.д.). Фосфор (неорганічний ортофосфат) може також бути присутнім у клітинних вакуолях у якості внутрішнього буфера.

На противагу азоту й сірці, які в тканинах перебувають у відновленій формі, фосфор входить в органічні сполуки в окисненій формі у вигляді фосфату. *Перетворення органічних сполук фосфору.* Фосфор, який міститься в органічних речовинах ґрунту, не засвоюється вищими рослинами. Складні органічні сполуки фосфору перетворюються мікроорганізмами на доступні для засвоєння рослинами солі ортофосфорної кислоти, що сприяє розчиненню важкорозчинних мінеральних фосфорних сполук у ґрунті. Органічні сполуки фосфору розкладаються мікробами з різною швидкістю. Так, нуклеїнові кислоти дефосфорилуються легше, фітин — важче. Швидко мінералізується фосфор органічних сполук тіла мікроорганізмів.

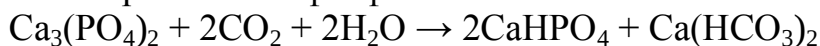
Органічні сполуки фосфору розкладають бактеріями родів *Pseudomonas*, *Bacillus* (*Bac. megaterium*, *Bac. mesentericus*), грибами з родів *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Trichothecium*, *Alternaria*, деякими актиноміцетами й

іншими мікроорганізмами. Розкладання зазначених сполук також здійснюють дріжджі (*Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Candida*, *Hansenula* і ін.).

При розкладанні органічних речовин мікроорганізмами останні фіксують у своїх клітинах певну кількість фосфору, що містять ці речовини. Тому внесення в ґрунт органічних сполук, занадто бідних фосфором, наприклад соломи, може викликати біологічне закріплення фосфатів і пов'язане з ним фосфорне голодування рослин.

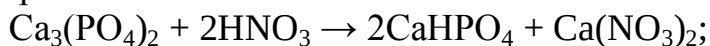
Перетворення неорганічних фосфатів. Ряд неорганічних форм фосфору в ґрунті представлений нерозчинними фосфатами кальцію (наприклад, апатитами, оксиапатитами, фосфоритами), які містяться переважно в нейтральних і лужних ґрунтах (у кислих ґрунтах переважають солі заліза й алюмінію). Ці сполуки фосфору, що входять до складу мінералів, недоступні або слабо доступні для рослин. Однак багато мікроорганізмів можуть перетворювати нерозчинні з'єднання фосфорної кислоти в розчинний стан. До них відносяться представники бактерій, актиноміцетів, грибів і інших груп мікроорганізмів (роди *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Penicillium*, *Aspergillus* і т.д.). Розчинення фосфатів у ґрунті відбувається в результаті утворення вуглекислого газу або різних кислот.

Вуглекислий газ, що утворюється під час руйнування органічної речовини, у присутності води перетворюється до вуглекислоти, яка більш-менш швидко розчиняє нерозчинний фосфат:

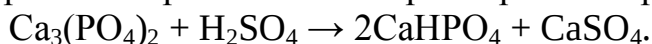


Мобілізація нерозчинних з'єднань фосфору відбувається також завдяки утворення мікроорганізмами органічних кислот і кетокислот при неповному окисненні вуглеводів або їх зброджуванні.

У деяких випадках нерозчинні форми фосфорних сполук можуть перетворюватися на розчинні за дії HNO_3 , яка утворюється нітрифікуючими бактеріями:



Аналогічний процес може відбуватися і під впливом сірчаної кислоти, яка утворюється при окисненні сірки сіркобактеріями:



Отже, біологічний цикл перетворення фосфору полягає у зворотному переході його із органічних сполук у неорганічні, з нерозчинного стану — в розчинний.

Фосфобактерин — бактеріальне добриво, що містить спороносну культуру бактерії *Bacillus megaterium* v *phosphatium*, здатну перетворювати органічні сполуки фосфору в ґрунті в доступні для рослин мінеральні його сполуки.

7.3. Перетворення сполук сірки мікроорганізмами

Сірка — необхідний елемент живлення для мікроорганізмів. У природі постійно відбуваються процеси перетворення сірки. В ґрунті сірка перебуває у формі сульфатів, а саме у вигляді $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Na_2SO_4 , K_2SO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, сульфідів FeS_2 , Na_2S , ZnS і органічних сполук. У вигляді сульфгідрильних ($-\text{SH}$)

і дисульфідних (-S-S-) груп сірка входить до амінокислот метіоніну, цистину і цистеїну; майже всі білки містять сірковмісні амінокислоти. Сірка є також у складі багатьох вітамінів, коферментів, глутатіону та інших сполук тіла рослин, тварин і мікроорганізмів.

В Україні середній вміст сірки в ґрунті становить 0,04 %, а в окремих районах вміст її зростає до 0,3 %; 80—90 % сірки в ґрунті перебуває в органічних сполуках і 10—20 % — у мінеральних. При нестачі сірки в ґрунті ріст і розвиток рослин пригнічується і продуктивність їх зменшується.

Значна частина сірки потрапляє в ґрунт у формі органічних сполук разом з відмерлими рештками. Тут органічні і неорганічні форми сірки зазнають різноманітних перетворень у процесі життєдіяльності мікроорганізмів. Напрямок цих перетворень регулюється в основному чинниками довкілля.

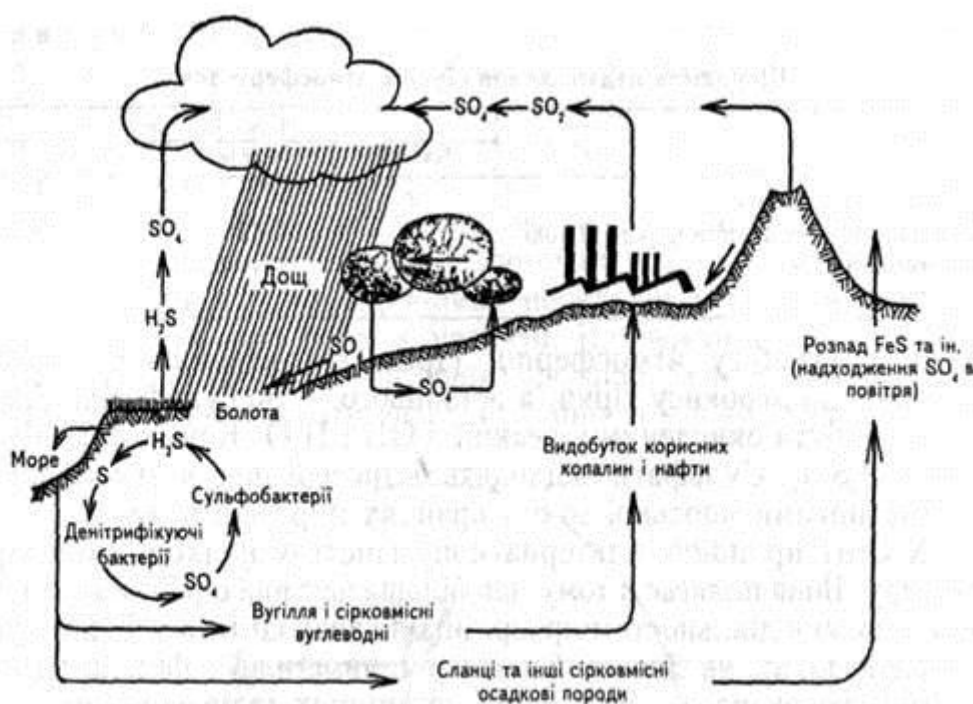


Рис. 7.30. Кругообіг сірки в біосфері.

Мал. 31. Кругообіг сірки в природі.

Разом із біологічним кругообігом сірки в атмосфері також відбуваються важливі небіологічні перетворення газоподібних форм цього елемента. Щорічно в атмосферу виділяється близько 90 млн. т сірки у вигляді H_2S , що утворюється біологічним шляхом. За цей же час при спалюванні різних викопних видів палива в атмосферу потрапляє ще 50 млн. т. сірки у формі SO_2 і близько 1 млн. т SO_2 та H_2S утворюються при виверженні вулканів. В атмосфері H_2S швидко окислюється киснем (атомарним, молекулярним) і озоном до SO_2 . Останній може розчинятися у воді і утворювати H_2SO_3 або повільно окислюватися до SO_3 який, розчиняючись у воді, перетворюється на H_2SO_4 . Деяка частина сірчаної кислоти нейтралізується аміаком, що міститься в атмосфері, а переважна більшість її разом з H_2SO_3 повертається на поверхню землі.

Відомі вчені В.І. Вернадський, Б.Л. Ісаченко, М.В. Іванов, які дотримувались і плідно розвивали теорію біогенного походження сірки,

вказували на надзвичайно важливу роль бактерій в утворенні й руйнуванні самородної сірки. Щодо з'ясування походження деяких родовищ сірки велике значення мали дані з розподілу стабільних ізотопів сірки і вуглецю в різних породах.

Органічні сполуки сірки можуть бути розкладені мікробами до мінеральних. За певних умов відновлені неорганічні сполуки сірки окислюються мікроорганізмами, а окислені сполуки (сульфати, сульфіти та інші) можуть відновлюватися до H_2S .

Окислення неорганічних сполук сірки. Активними окиснювачами відновлених з'єднань сірки є наступні групи мікроорганізмів:

1. тіонові бактерії, представлені чотирма родами: *Thiobacillus*, *Thiomicrospira*, *Thiodendron* і *Sulfolobus*.

2. одноклітинні й багатоклітинні (нитчасті) форми, що утворюють трихоми й належать до родів *Achromatiurn*, *Thiobacterium*, *Thiospira*, *Beggiatoa*, *Thiothrix*, *Thiorhiza*.

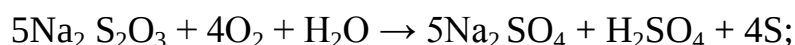
3. фотосинтезуючі пурпурні й зелені сіркобактерії, а також деякі ціанобактерії;

4. хемоорганогетеротрофні організми з родів *Bacillus*, *Pseudomonas*, актиноміцети й гриби (*Penicillium*, *Aspergillus*).

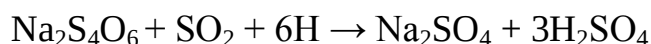
Бактерії з роду *Thiobacillus* поширені в ґрунтах. Нитчасті форми переважно живуть у заболочених водоймищах і затоплених ґрунтах, де є відновлені сполуки сірки, а фотосинтезуючі сіркобактерії найчастіше трапляються в ставках, озерах, морських лагунах тощо.

Представники роду *Thiobacillus* мають здатність окислювати тіосульфат, сірководень, сульфіди і тетратіонати. М.Бейерінк виділив ці бактерії в особливу групу з родовою назвою *Thiobacillus*, а відомий російський мікробіолог В.Л.Омелянський запропонував називати цю групу бактерій тіоновими.

Тіонові бактерії. Рід *Thiobacillus* об'єднує багато видів (*Thiobacillus thioparus*, *Th. thiooxidans*, *Th. denitrificans*). Більшість видів роду — не спороносні, грам негативні, рухливі паличкоподібні бактерії, завдовжки від 1 до 3 мкм. Серед них є облігатні автотрофи, які використовують як джерело вуглецю CO_2 , факультативні автотрофи і один вид *Thiobacillus novellus*, що може водночас окислювати тіосульфат і органічні речовини. Окислювальні процеси, зумовлені представниками тіонових бактерій, можна записати у вигляді таких рівнянь:



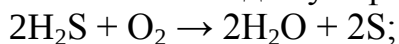
Тетратіонати можуть окислюватися і далі до сірчаної кислоти:



Тіонові бактерії — облигатні аероби, за винятком *Thiobacillus denitrificans*, яка в присутності нітратів росте як анаероб. Сірка із середовища надходить у вакуоль клітини тіюнової бактерії завдяки дифузії і відкладається в ній про запас, а коли виникає потреба, вона може окислюватися.

Thiobacillus thioparus — невеликих розмірів неспороутворююча паличка з одним джгутиком. Розвивається в лужних і нейтральних водах і може окислювати сірководень, елементарну сірку, тіосульфат, тетратіонат. *Thiobacillus thiooxidans* — розвивається у кислих водах і в ґрунті. Вона може розвиватися при pH = 0,6 ... 4,5. При оптимальному pH середовища, яке становить 2,5, може нагромаджувати в середовищі до 5—7 % сірчаної кислоти. *Thiobacillus ferrooxidans* — облигатний автотроф. Оптимальний розвиток цієї бактерії відбувається при pH = 2 ... 4. Проте її можна виявити в рудах з нейтральною реакцією — там, де спостерігається мікробіотичне окислення сульфідних мінералів. Характерною особливістю цих бактерій є здатність витримувати дію високих концентрацій (до 6 %) міді та деяких інших металів. Вони окислюють практично всі відомі сульфідні мінерали.

Ниткоподібні сіркобактерії об'єднують у роди: *Beggiatoa*, *Thiothrix*, *Thiospirillopsis*, *Thioploca* та інші. На відміну від тіюнових, ці бактерії при окисленні H₂S до елементарної сірки (**сульфофікація**) можуть тимчасово відкладати її всередині клітин. Досліджуючи явище хемоавтотрофії, С.М.Виноградський показав, що ці бактерії, окислюючи сірководень, спочатку перетворюють його на елементарну сірку, яка нагромаджується в клітинах, а потім окислюється до сульфату за такою схемою:



Ниткоподібні сіркобактерії з роду *Beggiatoa*, що живуть у забруднених водоймищах або сірчаних джерелах, не прикріплені до субстрату, представники роду *Thiothrix* — прикріплені одним кінцем до твердого субстрату. Виявлено здатність нитчастих сіркобактерій окислювати сірку і використовувати органічні речовини.

Сполуки сірки окислюються також пурпурними і зеленими сіркобактеріями. Вважають, що ці бактерії найдавніші фотосинтезуючі організми, які існують і нині. Описано понад 50 видів пурпурних і зелених бактерій. Чимало з них виділені у вигляді чистих культур.

Сірку можуть окислювати також багато видів гетеротрофних мікроорганізмів у присутності органічних речовин, наприклад, деякі види бацил (*Bacillus subtilis*, *B. mesentericus*, *B. asterosporus* та інші), актиноміцетів і дріжджових грибів. Перетворення сірки є побічним процесом в головному метаболізмі цих мікробів.

Відновлення неорганічних сполук сірки або десульфофікація. Мікробне відновлення сульфатів, яке ще називається десульфофікацією, найбільш інтенсивно відбувається в затоплюваних ґрунтах з поганою аерацією, лиманах, деяких морях та інших водоймищах. Збудників процесу відносять до двох родів: *Desulfovibrio* та *Desulfotomaculum*.

Типовим представником роду *Desulfovibrio* є *D. desulfuricans*— ^{Lecture}грам негативний, облігатно анаеробний, дуже рухливий вібріон, виявлений у морській воді, мулі, прісній воді, ґрунтах.

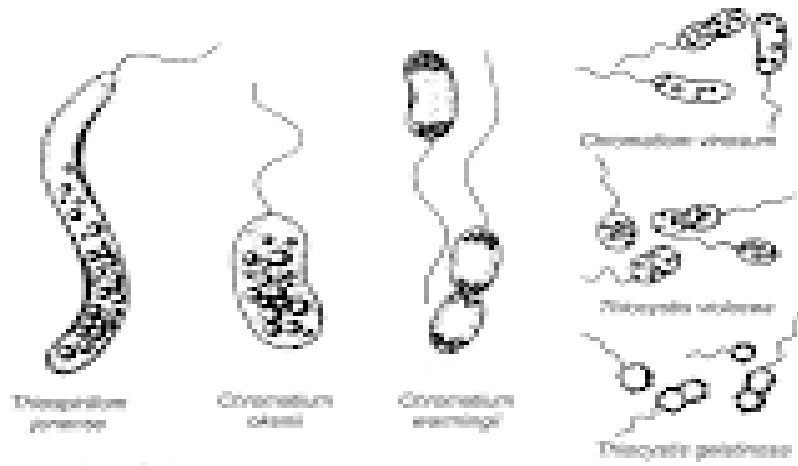
Характерним представником сульфатредукуючих бактерій з роду *Desulfotomaculum* є *D. nigrificans*. Це грам негативні, спороносні, облігатно анаеробні рухливі паличкоподібні бактерії, які можуть перетворювати сульфати на сульфіди при високих температурах. Десульфофікуючі бактерії є спеціалізованою групою мікроорганізмів. Вони використовують сульфат як акцептор водню в анаеробних умовах для окислення органічних сполук або водню. При окисленні органічних субстратів водень переноситься цими бактеріями на окислені сполуки сірки (сульфати, сульфіти, тіосульфати), які відновлюються до H_2S . Цей тип дихання, як уже зазначалось, дістав назву сульфатного. Процеси відновлення сірки сульфатредукуючими і гнильними мікробами мають неабияке значення для життя в ґрунтах і водоймах, бо вони супроводжуються нагромадженням великої кількості сірководню. Якщо в ґрунті або водоймищі нагромадиться значна кількість H_2 , то життя рослин і тварин пригнічується або зовсім припиняється. Таке явище можна спостерігати в деяких озерах, лиманах і навіть у відкритому морі на певній глибині. Так, у Чорному морі на глибинах понад 200 м нагромаджується стільки сірководню, що розвиток живих організмів там є пригніченим./

Разом із цим бактерії, що відновлюють сульфати, відіграють велику роль у геологічних процесах. Вони утворюють сірководень, який бере участь у формуванні сірчаних руд. Описано водоймища, де молекулярна сірка утворюється внаслідок окислення сірководню, який надходить в озера із сірчаних джерел.

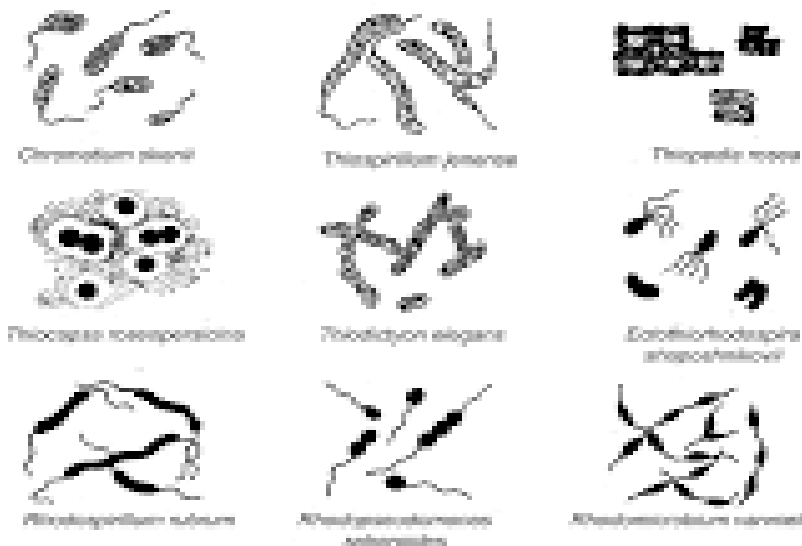
Сульфатредукуючі бактерії беруть участь не тільки у виникненні родовищ сірки, а й утворенні сульфідних руд. Існує думка, що утворення вторинних сульфідів за участю бактерій може відбутися як в осадових, так і в гідротермальних родовищах сульфідних руд. Причому ці процеси за сприятливих умов відбуваються і зараз. Значне поширення сульфатредукуючих бактерій як у минулому, так і тепер вказує на їхню можливу роль в утворенні вторинних сульфідів у родовищах.

Сульфатредукуючі мікроби також можуть приносити шкоду, руйнуючи нестійкі до сірководню матеріали. Їх діяльність – одна з причин корозії металевих обладнань в анаеробній зоні. Сірководень токсичний, при накопиченні його у ґрунті рослинність швидко гине. При накопиченні його у водоймах швидко гинуть тварини і рослини, що там живуть. В деяких озерах, лиманах і навіть відкритому морі (чорне море на глибині 200 м) сірководень накопичується в таких кількостях, що життя там неможливе.

А



Б



Мал. 32 Найбільш поширені пурпурні(А) *Thiospirillum jenense*, *Chromatium warmingii*, *Chromatium vinosum*, *Thiocystis violacea*, *Thiocystis gelatinosa* і зелені (Б) *Lamprocystis*, *Thlodictyon*, *Thlopecta*, *Amoebobacter*, *Chlorobium limicola*, *Chlorobium vibrioforme*, *Chlorobium phaeobacteroides*, *Chlorochromatium (consortium)*, *Pelodictyon clathratioforme*, *Pelochromatium (consortium)*, сіркобактерії

7.4. Перетворення сполук заліза.

Біологічна роль заліза зумовлена головним чином тим, що воно входить до складу гемоглобіну, міоглобіну, ферментів — катал ази, пероксидази, а також цитохромів, ферредоксину тощо. В ґрунті залізо міститься у вигляді органічних і неорганічних сполук. Загальний вміст заліза в ґрунтах становить 0,5—5 %, а тому абсолютна нестача його в ґрунті не спостерігається.

Важливу роль у трансформації сполук заліза в ґрунтах, зокрема в переведенні нерозчинних сполук у розчинні і навпаки, відіграють мікроби. Мінералізацію органічних сполук, що містять залізо, можуть здійснювати різні

гетеротрофні організми (бактерії, гриби, актиноміцети та ін.). При цьому залізо найчастіше звільняється в аеробних умовах і осідає у вигляді гідроксиду заліза. Lecture

У біосфері поряд з окисленням і осіданням заліза відбуваються і прямо протилежні процеси відновлення і розчинення його сполук. Сукупність цих процесів становить кругообіг заліза в природі. Циклічний характер перетворення сполук заліза за участю мікроорганізмів. Роль мікроорганізмів, якщо брати цей кругообіг у планетарному масштабі, досить значна.

Окислення і відновлення сполук заліза. Чимало мікробів безпосередньо або посередньо беруть участь в окисленні заліза. Серед гетеротрофних представників є мікроорганізми, які окислюють комплексні органічні сполуки заліза. Гідроксид заліза, що утворюється при цьому, відкладається на поверхні клітин мікроорганізмів. Такі мікроби поширені в ґрунтах (наприклад, бактерії з родів *Hyphomicrobium*, *Seliberia* та інші), водоймищах (бактерії з родів *Blastocaulis*, *Siderocapsa*).

С.М.Виноградським було відкрито, а М.Г.Холодним ґрунтовно вивчено також різноманітні за морфологією мікроорганізми, які мають здатність окислювати неорганічні сполуки заліза в болотах, залізистих джерелах, в озерах, дренажних трубах тощо з утворенням охристих осадів. Ці бактерії дістали назву залізобактерій. До них належать нитчасті форми бактерій *Leptothrix*, *Grenothrix* і бактерії з родів *Gallionella*, *Metallogenium* та інші.

Ступінь автотрофності залізобактерій є різним: одні види є типовими автотрофами та існують переважно за рахунок енергії, що утворюється при окисленні оксиду (II) заліза або марганцю в оксид (III), інші здатні також окислювати органічні сполуки.

Рід *Leptothrix* об'єднує залізобактерії, що утворюють ланцюжки клітин. Їхня бічна поверхня виділяє гідрат окису заліза, який утворює циліндричний чохол, що покриває весь ланцюжок. У міру потовщення чохла обмежується доступ до клітин закисного заліза, кисню й CO_2 . Внаслідок цього бактеріальні клітини скидають старі чохла, повільно виходячи назовні, і потім утворюють новими чохлами. Порожні чохла, накопичуючись, утворюють осад охри у водоймах. *Leptothrix* окислює двовалентне залізо (FeCO_3) до тривалентного $\text{Fe}_2(\text{CO}_3)_3$ із наступним гідролізом до $\text{Fe}(\text{OH})_3$: $4\text{FeCO}_3 + 6\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2 \rightarrow 4\text{Fe}(\text{OH})_3 + 4\text{CO}_2$

Рід *Gallionella*. Типовий представник цього роду *Gallionella ferruginea* має паличко або бобовинні клітини із джгутиками. Клітини розташовані на довгій плоскій, спіральньо-перекрученій стеблинці. Одна сторона клітини ввігнута, інша — опукла. Остання виділяє назовні відкладення колоїдного гідрату окису заліза, з якого поступово утворюється стеблинка.

Відомі й справжні хемолітоавтотрофні бактерії, що мають здатність отримувати енергію в результаті окислення закисного заліза й використовувати вуглець із вуглекислоти. До цих бактерій відноситься *Thiobacillus ferrooxidans*.

Широко вивчаються способи застосування залізо сіркобактерій, щоб позбутися сірки в нафті, розчинення сульфатів у метало сплавах, залізних рудах. Нерідко залізо сіркобактерії завдають значної шкоди, оскільки вони спричиняють корозію металевих залізних споруд у шахтах. За певних умов, надмірно розвиваючись у водогінних та дренажних трубах, вони можуть утворюваним слизом закупорювати труби і погіршувати прохід води.

Хемолітотрофні й низка гетеротрофних мікроорганізмів, які здійснюють ^{Lecture} трансформацію заліза в природі, беруть участь в утворенні залізних відкладів. Останні зумовлюють формування осадових залізних руд у болотах, озерах та інших водоймах. Є думки також про те, що такі мікроорганізми можуть брати участь і на ранніх етапах утворення залізних руд (наприклад Криворізького басейну).

Роль мікроорганізмів в кругообігу речовин в природі
www.slideshare.net/ViktorStabnikov/topic-8-role-of-microorganisms-in-substances-cycle-in-nature

Питання для самоконтролю.

1. Яке значення в утворенні сполук заліза та фосфору?
2. Які мікроорганізми викликають окислення сполук сірки?
3. В чім сутність окислення та відновлення сполук заліза?

ТЕМА 8. СИНТЕЗ БІЛКА І БІОЛОГІЧНО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН МІКРООРГАНІЗМАМИ.

План

1. Синтез амінокислот та білка мікроорганізмами.
2. Утворенні вітамінів.
3. Утворення антибіотиків мікроорганізмами.
4. Харчові та кормові отруєння.

8.1 Синтез амінокислот та білка мікроорганізмами.

Корми, що містять недостатньо протеїну, незамінних амінокислот та вітамінів неефективні. Витрати їх для одержання тої чи іншої тваринної продукції підвищується в кілька разів. В умовах інтенсивного ведення господарства важливо не лише забезпечити достатнє валове виробництво кормів, але й отримати корми з високим вмістом в них білка та збалансованими за амінокислотним складом.

Виробництво мікробної біомаси - найбільше мікробіологічне виробництво. Мікробна біомаса може бути доброю білковою добавкою для домашніх тварин, птахів і риби. Виробництво мікробної біомаси особливо важливо для країн, що не культивують у великих масштабах сою (соєве борошно використовують як традиційну білкову добавку до кормів). При виборі мікроорганізму враховують питому швидкість росту і вихід біомаси на даному субстраті, стабільність при потоковому культивуванні, величину клітин. Клітини дріжджів крупніші, ніж бактерій, і легше відокремлюються від рідини при центрифугуванні. Можна вирощувати поліплоїдні мутанти дріжджів з великими клітинами.

В даний час відомі тільки дві групи мікроорганізмів, яким притаманні властивості, необхідні для великомасштабного промислового виробництва: це

дріжджі роду *Candida* на n-алканах (нормальних вуглеводнях) і бактерії *Methylophilus methylotrophus* на метанолі. Мікроорганізми можна вирощувати і на інших поживних середовищах: на газах, нафті, відходах вугільної, хімічної, харчової, вино-горілчаної, деревообробної промисловості. Економічні переваги їх використання очевидні.

Так, кілограм переробленої мікроорганізмами нафти дає кілограм білку, а, скажімо, кілограм цукру - всього 500 грамів білку. Амінокислотний склад білка дріжджів практично не відрізняється від такого, отриманого з мікроорганізмів, вирощених на звичайних вуглеводних середовищах. Біологічні випробування препаратів з дріжджів, вирощених на вуглеводнях, які проведені і у нас в країні і за кордоном, виявили повну відсутність у них будь-якого шкідливого впливу на організм піддослідних тварин. Досліди були проведені на багатьох поколіннях десятків тисяч лабораторних і сільськогосподарських тварин. У непереробленому вигляді дріжджі містять неспецифічні ліпіди та амінокислоти, біогенні аміни, полісахариди і нуклеїнові кислоти, а їх вплив на організм поки ще погано вивчений. Тому і пропонується виділяти з дріжджів білок в хімічно чистому вигляді. Звільнення його від нуклеїнових кислот також вже стало нескладним. У сучасних біотехнологічних процесах, заснованих на використанні мікроорганізмів, продуцентами білка служать дріжджі, інші гриби, бактерії і мікроскопічні водорості. З технологічної точки зору найкращими з них є дріжджі. Їх перевага полягає насамперед у "технологічності": дріжджі легко вирощувати в умовах виробництва. Вони характеризуються високою швидкістю росту, стійкістю до сторонньої мікрофлори, здатні засвоювати будь-які джерела живлення, легко відділяються, не забруднюють повітря спорами. Клітини дріжджів містять до 25% сухих речовин.

Найбільш цінний компонент дріжджової біомаси - білок, який за складом амінокислот перевершує білок зерна злакових культур і лише трохи поступається білкам молока і рибного борошна. Біологічна цінність дріжджового білка визначається наявністю значної кількості незамінних амінокислот. За вмістом вітамінів дріжджі перевершують всі білкові корми, в тому числі і рибне борошно. Крім того, дріжджові клітини містять мікроелементи і значну кількість жиру, в якому переважають ненасичені жирні кислоти. При згодовуванні кормових дріжджів коровам підвищуються надої і вміст жиру в молоці, а у хутрових звірів поліпшується якість хутра.

Інтерес представляють і дріжджі, що володіють гідролітичними ферментами і здатні рости на полісахаридах без їх попереднього гідролізу. Використання таких дріжджів дозволить уникнути дорогої стадії гідролізу поліцукровмісних відходів. Відомо більше 100 видів дріжджів, які добре ростуть на крохмалі як на єдиному джерелі вуглецю. Серед них особливо виділяються два види, які утворюють як глюкоамілази, так і β -амілази, ростуть на крохмалі з високим економічним коефіцієнтом і можуть не тільки асимілювати, але і зброджувати крохмаль: *Schwanniomyces occidentalis* і *Saccharomycopsis fibuliger*. Обидва види - перспективні продуценти білку і амілолітичних ферментів на крохмальовмісних відходах. Ведуться пошуки і таких дріжджів, які могли б розщеплювати нативну целюлозу. Целюлази

виявлені у кількох видів, наприклад у *Trichosporon pullulans*, однак активність цих ферментів низька і про промислове використання таких дріжджів говорити поки не доводиться.

Дріжджі з роду *Kluyveromyces* добре ростуть на інуліні - основній запасній речовині в бульбах топінамбура - важливої кормової культури, яка також може бути використана для отримання дріжджового білку.

Останнім часом в якості продуцентів білку стали використовувати *бактерії*, які відрізняються високою швидкістю росту і містять в біомасі до 80% білку. Бактерії добре піддаються селекції, що дозволяє отримувати високопродуктивні штами. Їх недоліками є важка осаджуваність, обумовлена малими розмірами клітин, значна чутливість до фагів інфекцій і високий вміст в біомасі нуклеїнових кислот. Остання обставина несприятлива тільки в тому випадку, якщо передбачається харчове використання продукту. Знижувати вміст нуклеїнових кислот в біомасі, що вживається як корм тваринам, немає необхідності, тому що сечова кислота і її солі, що утворюються при руйнуванні азотистих основ, перетворюються в організмі тварин в *алантоїн*, який легко виділяється з сечею. У людини надлишок солей сечової кислоти може сприяти розвитку ряду захворювань.

Наступну групу продуцентів білка складають *гриби*. Вони привертають увагу дослідників завдяки здатності утилізувати найрізноманітніші за складом органічну сировину: м'ясо, молочну сироватку, сік рослин і коренеплодів, лігнін- і целюлозовмісні тверді відходи харчової, деревообробної, гідролісної промисловості. Грибний міцелій багатий білковими речовинами, які за вмістом незамінних амінокислот найближчі до білків сої. Разом з тим білок грибів багатий на лізин, основною амінокислотою, відсутньої в білку зернових культур. Це дозволяє на основі зерна і грибної біомаси складати збалансовані харчові та кормові суміші. Грибні білки мають досить високу біологічну цінність і добре засвоюються організмом. Позитивним фактором є і волокниста будова вирощеної культури. Це дозволяє імітувати текстуру м'яса, а за допомогою різних добавок - його колір і запах. Зберігають грибний міцелій зазвичай в замороженому вигляді. Як субстрат грибам використовуються глюкозу та інші поживні речовини, а спільним джерелом азоту слугує аміак і амонійні солі. Після завершення стадії ферментації культуру піддають термообробці для зменшення вмісту рибонуклеїнової кислоти, а потім відділяють міцелій методом вакуумного фільтрування.

Джерелами білкових речовин можуть служити і *водорості*. При фототрофному способі харчування та утворення біомаси вони використовують вуглекислий газ атмосфери. Вирощують водорості, як правило, в поверхневому шарі ставків, де з площі 0,1 га можна отримати стільки ж білка, скільки з 14 га посівів квасолі. Білок водоростей придатний не тільки для кормових, але і харчових цілей. Нарешті, добрими продуцентами білка є Ряска, яка накопичує протеїну до 45% від сухої маси, а також до 45% вуглеводів. Однак, незважаючи на свої малі розміри, вони не належать до перерахованих вище виробникам білку (мікроорганізмам), так як не тільки є багатоклітинними організмами, але і відносяться до вищих рослин.

Це цікаво знати

Субстрати для культивування мікроорганізмів з метою отримання білку.

В якості джерел речовини і енергії мікроорганізми використовують найрізноманітніші субстрати - нормальні парафіни і дистильати нафти, природний газ, спирти, рослинні гідролізати і відходи промислових підприємств. Для вирощування мікроорганізмів з метою отримання білку добре б мати багатий вуглецем, але дешевий субстрат. Цій вимозі цілком відповідають нормальні (нерозгалужені) парафіни нафти. Вихід біомаси може досягати при їх використанні до 100% від маси субстрату. Якість продукту залежить від ступеня чистоти парафінів. При використанні парафінів достатнього ступеня очищення, отримана дріжджова маса може успішно застосовуватися в якості додаткового джерела білка в раціонах тварин. Перший у світі великий завод кормових дріжджів потужністю 70 000 т. за рік. був запущений в 1973 р в СРСР. В якості сировини на ньому використовували виділені з нафти алкани і кілька видів дріжджів, здатних до швидкого росту на вуглеводнях: *Candida maltosa*, *Candida guilliermondii*, *Candida lipolytica*.

Надалі саме відходи від переробки нафти служили головною сировиною для виробництва дріжджового білку, яке швидко зростало і до середини 80-х рр. перевищило 1 млн. т. за рік, причому в СРСР кормового білка отримували вдвічі більше, ніж у всіх інших країнах світу, разом узятих. Проте в подальшому масштаби виробництва дріжджового білка на вуглеводнях нафти різко скоротилися. Це відбулося як внаслідок економічної кризи 90-х рр., так і з-за цілого ряду специфічних проблем, з якими пов'язане це виробництво. Одна з них - необхідність очищення готового кормового продукту від залишків нафти, що мають канцерогенні властивості. У нашій країні мало районів, придатних для вирощування сої, що є основним джерелом білкових добавок. Тому налагоджено великотоннажне виробництво кормових дріжджів на *n*-парафіну. Діє кілька заводів потужністю від 70 до 240 тис. тонн за рік.

Сировиною служать рідкі очищені парафіни. Одним з перспективних джерел вуглецю для культивування продуцентів білка високої якості вважається метиловий спирт. Його можна отримувати методом мікробного синтезу на таких субстратах, як деревина, солома, міські відходи. Використання метанолу в якості субстрату ускладнене через його хімічну структуру: молекула метанолу містить один атом вуглецю, тоді як синтез більшості органічних сполук здійснюється через двовуглецеву молекулу. На метанолі як на єдиному джерелі вуглецю та енергії здатні рости близько 25 видів дріжджів, в тому числі *Pichia polymorpha*, *Pichia anomala*, *Yarrowia lipolytica*.

Найкращими продуцентами на цьому субстраті вважаються бактерії, тому що вони можуть рости на метанолі з додаванням мінеральних солей. Процеси отримання білка на метанолі досить економічні. За даними концерну Ай-Сі-Ай (Великобританія), собівартість продукту, виробленого на метанолі, на 10-15% нижча, ніж при аналогічному виробництві, що базується на основі високоочищених *n*-парафінів. Високобілкові продукти з метанолу одержують

фірми ряду розвинених країн світу: Великобританії, Швеції, Німеччини, США, Італії. Продуцентами білка слугують бактерії роду *Methylobacter*. Вирощування на метанолі метилотрофних бактерій, таких як *Methylobacter*, вигідне, так як вони використовують одно вуглецеві сполуки більш ефективно. При зрості на метанолі бактерії дають більше біомаси, ніж дріжджі. Перша реакція окислення метанолу у дріжджів каталізується оксидазою, а у метилотрофних прокаріот - дегідрогеназою. Ведуться генно-інженерні роботи щодо перенесення гена метанолдегідрогеназою з бактерій в дріжджі. Це дозволить об'єднати технологічні переваги дріжджів з ефективністю росту бактерій. Використання етанолу як субстрату знімає проблему очищення біомаси від аномальних продуктів обміну з непарним числом вуглецевих атомів. Вартість такого виробництва трохи вища. Біомасу на основі етанолу виробляють в Чехословаччині, Іспанії, Німеччині, Японії, США.

У США, Японії, Канаді, ФРН, Великобританії розроблені технологічні процеси отримання білка на природному газі. Вихід біомаси в цьому випадку може становити 66% від маси субстрату. В розробленому у Великобританії процесі використовується змішана культура: бактерії *Methylobacter*, що засвоюють метан, *Heteromicrobium* і *Pseudomonas*, що засвоюють метанол, і два види неметилотрофних бактерій. Культура характеризується високою швидкістю росту і продуктивністю. Головні переваги метану (до речі сказати, основного компонента природного газу) - доступність, відносно низька вартість, висока ефективність перетворення в біомасу метаноокисними мікроорганізмами, значний вміст в біомасі білку, збалансованого за амінокислотним складом. Бактерії, що ростуть на метані добре переносять кисле середовище і високі температури, у зв'язку з чим стійкі до інфекцій. Субстратом для мікробного синтезу може бути і мінеральний вуглець - вуглекислий газ. Окислений вуглець в даному випадку з успіхом відновлюється мікрободоростями за допомогою сонячної енергії та воднеокислюючими бактеріями за допомогою водню.

На корм худобі використовують суспензію водоростей. Для роботи установок з вирощування водоростей необхідні стабільні кліматичні умови - постійні температури повітря та інтенсивність сонячного світла. Найбільш перспективне отримання білку за допомогою воднеокислюючих бактерій, які розвиваються за рахунок окислення водню киснем повітря. Енергія, що вивільняється в цьому процесі, йде на засвоєння вуглекислого газу. Для отримання біомаси використовуються, як правило, бактерії роду *Hydrogenomonas*. Спочатку інтерес до них виник при розробці замкнутих систем життєзабезпечення, а потім їх стали вивчати з точки зору використання в якості продуцентів високоякісного білку.

В інституті мікробіології Геттінгенського університету (Німеччина)

розроблений спосіб культивування воднеокислюючих бактерій, при якому можна отримувати 20 г сухої речовини на 1 літр суспензії клітин. Можливо, в майбутньому ці бактерії стануть основним джерелом харчових мікробних білків.

Виключно доступним і досить дешевим джерелом вуглеводів для виробництва мікробного білка є рослинна біомаса. Будь-яка рослина містить різноманітні цукри. Целюлоза - полісахарид, що складається з молекул глюкози. Геміцелюлоза складається із залишків арабінози, галактози, манози, фруктози. Проблема в тому, що полісахариди деревини пов'язані жорсткими оксифенілпропановими ланками лігніну - полімеру, який майже не піддається руйнуванню. Тому гідроліз деревини відбувається тільки в присутності каталізатора - мінеральної кислоти і при високих температурах. При цьому утворюються моноцукри - гексози і пентози. На рідкій, що містить цукор, фракції гідролізату вирошують дріжджі. При кислотному гідролізі деревини утворюється ряд побічних продуктів (фурфурол, меланіни), а через високі температури може відбутися карамелізація цукрів. Ці речовини перешкоджають нормальному росту дріжджів, їх відділяють від гідролізату і за можливістю використовують. Як продуцентів використовують штами *Candida scottii* і *C. tropicalis*.

Найбільш великим виробником сировини для гідролізої промисловості є деревообробні підприємства, відходи яких досягають щорічно десятки мільйонів тонн. На жаль, нераціонально або не використовуються взагалі відходи виробництва луб'яних волокон (з льону та коноплі), картопельнокрахмального виробництва, пивоварної, плодоовочевої, консервної промисловості, буряковий жом. Особливої уваги заслуговують способи прямої біоконверсії продуктів фотосинтезу та їх похідних в білок за допомогою грибів. Ці організми завдяки наявності потужних ферментних систем здатні утилізувати складні рослинні субстрати без попередньої обробки. Дослідження умов біоконверсії рослинних субстратів в мікробний білок активно ведуться в США, Канаді, Індії, Фінляндії, Швеції, Великобританії, в нашій країні та інших країнах світу. Однак в літературі відомості про широкомасштабне виробництво білків мікробного походження нечисленні.

Найбільш відомим і доведеним до стадії промислової реалізації є процес "Ватерлоо", розроблений в університеті Ватерлоо в Канаді. Цей процес, заснований на вирошуванні целлюлозоруйнуючих грибів *Chaetomium cellulolyticum*, можна здійснювати як у глибинній культурі, так і поверхневим методом. Вміст білка в кінцевому продукті (висушеному грибному міцелії) становить 45%.

Фінська фірма "Тампелла" розробила технологію і організувала виробництво білкового кормового продукту "Пекіло" на відходах целюлозно-паперового виробництва. Продукт містить до 60% протеїну з добрим амінокислотним профілем і значна кількість вітамінів групи В.

У більшості країн - виробників молока традиційним способом утилізації сироватки є згодовування її тваринам. Ступінь конверсії білку сироватки в білок тваринного походження дуже невисока (для вироблення 1 кг тваринного білка необхідно 1700 кг сироватки). В останні 10-15 років із сироватки методом ультрафільтрації виділяють білки високої якості, на основі яких роблять замінники сухого знежиреного молока та інші продукти. Концентрати можна використовувати як харчові добавки і компоненти дитячого харчування. З сироватки виробляється і молочний цукор - лактоза, яка застосовується в харчовій і медичній промисловості. При всьому при

цьому обсяг промислової переробки сироватки становить 50-60% від її загального виробництва. Отже, в наявності великі втрати найціннішого молочного білку і лактози. Більш того, виникає проблема утилізації відходів, так як процес природного розкладання сироватки відбувається вкрай повільно. Лактоза молочної сироватки може слугувати джерелом енергії для багатьох видів мікроорганізмів, сировиною для виробництва продуктів мікробного синтезу (органічних кислот, ферментів, спиртів, вітамінів) і білкової біомаси.

З усіх відомих мікроорганізмів найвищим коефіцієнтом конверсії білку сироватки в мікробний білок володіють дріжджі. Здатність до асиміляції лактози є приблизно у 20% всіх відомих видів дріжджів. Набагато рідше зустрічаються дріжджі, які зброджують лактозу. Активний катаболізм лактози особливо характерний для дріжджів з роду *Kluveromyces*. Ці дріжджі можна використовувати для отримання на молочній сироватці кормового білка, етанолу, препаратів β -глюкозидази. Вперше дріжджі на молочній сироватці стали вирощувати в Німеччині. Як продуцентів застосовували різні штами цукроміцетів. Розроблено способи одержання мікробних продуктів, засновані на використанні лактози як монокультури, так і сумішню дріжджів і бактерій. В даний час в якості продуцентів використовують дріжджі родів *Candida*, *Trichosporon*, *Torulopsis*. Молочна сироватка з дріжджами, які в ній вирости за біологічної цінністю значно перевершує вихідну сировину і її можна використовувати як заміник молока. Наведений перелік мікроорганізмів і процесів одержання білка одноклітинних не є вичерпним. Однак потенціал цієї нової галузі виробництва використовується далеко не повністю. Крім того, ми ще не знаємо всіх можливостей діяльності мікроорганізмів в якості продуцентів білка, але в міру поглиблення наших знань, вони будуть розширені.

8.2 Синтез мікроорганізмами вітамінів та ферментів

Термін «вітаміни» був запропонований Функом ще на початку минулого сторіччя. Сьогодні до вітамінів належить велика група низькомолекулярних органічних сполук різної хімічної природи, які присутні в організмі у незначних концентраціях, і як компоненти ферментних систем, що каталізують відповідні реакції. Вищі тварини і людина в основному потребують одержання готових вітамінів, а серед мікроорганізмів широко розповсюджена здатність до їх синтезу.

До вітамінів включають за прийнятою літерною класифікацією: в групу В (B_1 - тіамін, B_2 - рибофлавін, B_3 - пантотенова кислота, B_5 - нікотинова кислота, B_6 - піридоксин, B_c чи B_9 - фолієва кислота, B_{12} - ціанкобаламін, Н - біотин); вітамін С (аскорбінова кислота); групи А - ретиноли і провітамін А - β -каротин; D (кальцифероли і провітаміни - ергостерин, холестерин); Е (токофероли); К (нафтохінони); їх коферментні форми та різні інші похідні.

Вітаміни групи В ще називають кофакторними вітамінами, тому, що вони входять у структуру коферментів. Ці вітаміни беруть участь в метаболізмі як вищих організмів, так і мікробних клітин. Механізм дії інших вітамінів вивчений недостатньо. Деякі з них, наприклад С, А, D, не функціонують в мікробних клітинах, хоча провітаміни останніх двох - β -каротин і ергостерин - беруть участь у життєдіяльності певних типів мікроорганізмів і ними синтезуються.

Вітаміни одержують як хімічним, так і мікробіологічним синтезом. Практичне використання здатності мікроорганізмів до біосинтезу вітамінів розпочалося в 30—40-і роки минулого століття. В першу чергу звернули увагу на пивні і пекарські дріжджі як джерело вітамінів — B_1 , D_2 , С тощо.

Однак широкі перспективи щодо використання мікроорганізмів для одержання вітамінів з'явилися пізніше завдяки виявленню у них здатності до так званого надсинтезу вітамінів, тобто до утворення і накопичення в культурах деяких видів набагато більшої їх кількості, ніж потрібно для виконання каталітичних функцій. На це явище вперше звернув увагу в 30-х роках ХХ ст. Гільєрмон, який виявив накопичення рибофлавіну в культурі гриба *Eremothecium ashbyii*.

Незабаром надсинтетики рибофлавіну були знайдені і серед інших груп мікроорганізмів — дріжджів, бактерій, міцеліальних грибів. Потім була виявлена здатність до підвищеного синтезу інших вітамінів — B_{12} (у актиноміцетів, пропіоновокислих, метанових і деяких інших груп бактерій), каротиноїдів (у гетероталічних мукорових грибів), ергостерину (у деяких сахароміцетів).

Прогрес у вивченні хімізму біосинтезу вітамінів дав можливість використовувати для їх одержання не тільки активні продуценти, але й мікроорганізми, здатні здійснювати окремі етапи синтезу.

Крім вітамінів, мікробіологічним шляхом одержують інші речовини вітамінної природи, передусім коферменти. Дедалі ширше їх застосовують у медичній практиці, а мікробіологічний синтез в багатьох випадках єдиний або найбільш прийнятний спосіб їх одержання.

На сьогодні існують такі напрями вирішення проблеми одержання вітамінів мікробіологічним синтезом:

1. Одержання вітамінів і коферментів з використанням мікроорганізмів - продуцентів, в основному надсинтетиків, і спеціальних режимів їх культивування. До цієї категорії належать уже існуючі біотехнології одержання вітамінів B_2 , B_{12} , каротиноїдів.
2. Одержання індивідуальних вітамінів і коферментів з біомаси мікроорганізмів, яку вирощують у промислових масштабах на різних вуглецевих субстратах, або використання її як комплексних вітамінних препаратів.
3. Використання мікроорганізмів для здійснення окремих стадій процесу синтезу вітамінів. Можливості використання для вирощування таких мікроорганізмів нових видів нехарчової сировини розширюють межі цього напрямку.

Це цікаво знати

Одержання вітаміну A_1 . Каротиноїди - це ізопреноїдні сполуки, які синтезуються багатьма пігментними мікроорганізмами із родів *Aleuria*, *Blakeslea*, *Corynebacterium*, *Flexibacter*, *Fusarium*, *Halobacterium*, *Phycomyces*, *Pseudomonas*, *Rhodotorula*, *Sarcina* та ін. Всього описано майже 500 каротиноїдів.

З однієї молекули β -каротину при гідролізі утворюються дві молекули вітаміну A_1 . Це відбувається, наприклад, у кишечнику людини.

Каротиноїди локалізуються у вигляді складних ефірів і глікозидів у клітинній мембрані мікроорганізмів або у вільному стані - в ліпідних гранулах у цитоплазмі. В цілому основна функція каротиноїдів – захисна, їхньому біосинтезу в клітинах сприяє світло.

Як продуценти каротиноїдів можна використовувати бактерії, дріжджі, міцеліальні гриби. Найчастіше використовують зігоміцети *Blakeslea trispora* і *Choanephora conjuncta*. При спільному культивуванні вони можуть утворювати 3-4 г каротину на 1 л середовища.

Поживні середовища для них досить складні і включають джерела вуглецю, азоту, вітамінів, мікроелементів і спеціальних стимуляторів.

Спочатку штами вирощують порізно, а потім - спільно при температурі 26 °C і посиленій аерації з подальшим перенесенням в основний ферментер. Умови культивування зберігаються. Тривалість ферментації - 6-7 днів. Каротиноїди вилучають ацетоном (чи будь-яким іншим полярним розчинником) і переводять у неполярний розчинник. У випадках вилучення білково-каротиноїдних комплексів використовують поверхнево-активні речовини в концентрації 1-2 %. З метою очищення і більш тонкого розділення гомологів використовуються методи хроматографії або зміни розчинників. Вітамін A₁ порівняно легко можна одержати з β-каротину при гідролізі. У разі виготовлення каротиновмісної біомаси для згодовування тваринам і птиці можливе поєднання використання її з вітаміном A чи без нього.

Одержання вітаміну D. Вітамін D — це група споріднених сполук, в основі яких знаходиться ергостерин, що виявлений в клітинних мембранах еукаріот. Тому, наприклад, пекарські чи пивні дріжджі використовують для одержання ергостерину як провітаміну з антирахітичною дією. Вміст ергостерину в дріжджових клітинах коливається у межах 0,2-11%. Трансформація ергостерину у вітамін D₂ (кальциферол) відбувається під впливом ультрафіолетового опромінення.

Крім дріжджів продуцентами ергостерину можуть бути міцеліальні гриби — аспергіли і пеніцили, в яких міститься 1,2-2,2% ергостерину. Виявлено, що поліенові антибіотики, які діють на клітинну мембрану дріжджів, помітно стимулюють вміст ергостерину в біомасі.

При одержанні ергостерину у виробничих умовах можна виділити такі етапи: розмноження вихідної культури і накопичення інокулята; ферментація; сепарування клітин; опромінення клітин ультрафіолетовими променями; висушування і упакування цільового продукту.

Культивування дріжджів (ферментацію) проводять при температурі, наближеній до максимальної для конкретного штаму, і належній аерації (2 % O₂ в газовій фазі). Через 3-4 доби, залежно від ростових характеристик і біосинтетичної активності культури, клітини сепарують і піддають вакуум-висушуванню. Потім сухі дріжджі опромінюють ультрафіолетовими променями - УФП (довжина хвилі 280-300 нм) протягом оптимального часу за необхідної температури і з урахуванням домішок. Опромінення дріжджів можна проводити до сепарації клітин у тонкому шарі 5 % суспензії, враховуючи невелику проникну здатність УФП.

Опромінені сухі дріжджі використовують у тваринництві. У промисловості їх випускають під назвою «кормові гідролізні дріжджі, збагачені вітаміном D₂».

У випадку одержання кристалічного вітаміну D₂ клітини продуцента гідролізують соляною кислотою при температурі 110 °С. Потім температуру знижують до 75-78 °С і додають етанол. Суміш фільтрують при 10-15 °С і масу, яка залишилася після фільтрації, промивають водою, висушують, подрібнюють, нагрівають до 78 °С і двічі обробляють потрійним об'ємом етанолу. Спиртові екстракти об'єднують і упарюють до 70 %-го вмісту сухих речовин. Одержаний «ліпідний концентрат» обробляють розчином їдкою натрію. Ергостерин кристалізується з неомиленої фракції концентрату при 0 °С. Його можна очистити повторними перекристалізаціями. Кристали висушують, розчиняють у сірчаному ефірі, опромінюють УФП, ефір відганяють, а розчин вітаміну D₂ концентрують і кристалізують. «Кислотний фільтрат» зазвичай упарюють до 50 %-го вмісту сухих речовин і використовують як концентрат D-вітамінів.

Одержання вітаміну B₂. Рибофлавін або Вітамін B₂. Міститься в клітинах різних мікроорганізмів, будучи коферментом у складі флавопротеїнів (перш за все відповідних ферментів класу оксидоредуктаз - ФМН, ФАД). Продуцентами рибофлавіну (флавопротеїнів) можуть бути бактерії, дріжджі і нитчасті гриби.

Методами генетичної інженерії вдалось одержати штаб сінної палички, яка утворює приблизно 6 г рибофлавіну від культурального середовища, що містить патоку, білково-вітамінний концентрат і його гідролізат. Як джерело вуглецю використовують глюкозу або цукрозу, дріжджовий або кукурудзяний екстракт, соєву муку, масла (жири).

Зазвичай тривалість ферментації становить 5 діб при рН 5,5-7,7. Після використання цукрози (приблизно через 30 годин) починає помітно накопичуватися вітамін B₂, спочатку — в міцелії, а потім — у культуральній рідині.

Для використання в годівлі тварин всю біомасу висушують і в одержаному сухому продукті вологістю 8 % міститься 1,5-2,5 % рибофлавіну, 20 % білка, тіамін, нікотинова кислота, піридоксин, ціанкобаламін, мікроелементи та інші речовини.

Для промислового виробництва рибофлавіну перевагу надають більш продуктивним видам і штамам грибів – *E.ashbyii* і *Ashbyii gossypii*.

Одержання вітаміну С. Аскорбінова кислота, або вітамін С. Це протицинготний вітамін, який міститься у всіх вищих рослинах і тваринах. Тільки людина і мікроби не синтезують її, але людям вона вкрай необхідна, а мікроби не потребують цього вітаміну. Однак певні види оцтовокислих бактерій синтезують напівпродукт аскорбінової кислоти — L-сорбозу. Таким чином, весь процес одержання аскорбінової кислоти є змішаним, тобто хімікоферментативним.

Ферментацію *G.oxydans* проводять на середовищах, які містять сорбіт (20 %), кукурудзяний або дріжджовий екстракт, при інтенсивній аерації (8-10 г O₂/л/год). Вихід L-сорбози може сягнути 98 % за одну-дві доби. При досягненні культурою log-фази можна додатково вводити в середовище сорбіт, доводячи

його концентрацію до 25 %. Доведена можливість одержання L-сорбози із сорбіту за допомогою іммобілізованих у поліакриламідному гелі бактеріальних клітин. Lecture

Одержання вітаміну B₁₂. Ціанкобаламін, або вітамін B₁₂. Одержують тільки мікробіологічним синтезом. Його продуцентами є прокаріоти і перш за все пропіоновокислі бактерії, які в природних умовах утворюють цей вітамін. Мутанти *Propionibacterium shermanii* M-82 і *Pseudomonas denitrificans* M-2436 продукують на рідкому середовищі до 58-59 мг/л ціанкобаламіну.

Враховуючи важливу функцію вітаміну в організмі людини (він є протианемічним фактором), його світове виробництво досягло 10 т на рік, з яких 6,5 т витрачають на медичні потреби, а 3,5 т — у тваринництві (Єлінов Н.П., 1995).

Вітчизняне виробництво ціанкобаламіну базується на використанні *P. freudenreichii* Var. *shermanii*, яка культивується у періодичному режимі без доступу кисню. Ферментативне середовище зазвичай містить глюкозу, кукурудзяний екстракт, солі амонію і кобальту. рН близько 7,0 підтримують додаванням NH₄OH. Тривалість ферментації 6 діб. Через 3 доби у середовище додають 5,6-диметилбензімідазол — попередник вітаміну B₁₂ і продовжують ферментацію ще 3 доби.

Ціанкобаламін накопичується в клітинах бактерій, тому операції з виділення вітаміну полягають у наступному: сепарування клітин, екстрагування водою при рН 4,5-5,0 і температурі 85-90 °С за присутності стабілізатора (0,25 %-й розчин натрію нітриту). Екстракція відбувається протягом години, після чого водний розчин охолоджують, нейтралізують розчином NaOH, додають коагулянти білка (хлорид заліза тривалентного і алюмінію сульфату) з подальшою фільтрацією. Фільтрат упарюють і додатково очищують, використовуючи методи іонного обміну і хроматографії, потім проводять кристалізацію вітаміну при температурі 3-4 °С з водно-ацетонового розчину.

Кристалічний ціанкобаламін можна одержати за допомогою резорцину або фенолу, що утворюють з ним аддукти, які порівняно легко розкладаються на складові компоненти. При реалізації даного біотехнологічного процесу потрібно зважати на високу чутливість до світла вітаміну B₁₂. Через це усі операції необхідно проводити в умовах затемнення (або при червоному світлі).

8.3 Утворення антибіотиків мікроорганізмами

У мікроорганізмів ці речовини належать до вторинних метаболітів. Їх біосинтез не пов'язаний з ростом мікроорганізмів і вони не є життєво необхідними. Вони утворюються живою клітиною тільки за певних умов для забезпечення її продуцентів в умовах конкуренції з іншими живими організмами. Деякі з них можуть виконувати певні фізіологічні функції в організмі.

Наріжний камінь у справі виділення та застосування антибіотиків у медицині заклав О.Флемінг, який у 1929 році відкрив у культурі гриба *Penicillium notatum* антибіотичну речовину - пеніцилін. У 1943 році З.Ваксман виділив з актиноміцетів високоефективний антибіотик стрептоміцин, який виявився дуже цінним для лікування туберкульозу. Російські вчені Г.Ф.Гаузе, З.В.Єрмольєва, М.О.Красільников та інші відкрили антибіотики граміцидин С, альбоміцин, бацитрацин, екмолін тощо.

Lecture

Продуцентами антибіотиків можуть бути міцелі альні гриби (наприклад пеніцилові, аспергілові), бактерії (продуценти граміцидіну) але найчастіше актиноміцети (продуценти стрептоміцину, окситетрацикліну, біоміцину, тетрацикліну тощо). До антибіотиків тваринного походження належать лізоцим, еритрин, інтерферони тощо. Серед антибіотиків рослинного походження (фітонциди) найпоширенішими є аліцин, аренарин, берберин, іманін, рафанін.

Характерною властивістю антибіотиків є вибірковість їхньої дії щодо мікробів: кожен впливає тільки на певні види, тобто характеризується специфічним антимікробним спектром дії. Одні антибіотики зумовлюють бактеріостатичну або фунгістатичну дію (зокрема розмноження, пригнічення життєдіяльності), інші, виявляючи бактерицидний і фунгіцидний вплив, спричиняють загибель певних видів бактерій і грибів. Особливо ефективним є беталактамі антибіотики - група антибіотиків, які об'єднують наявність у структурі β -лактамного кільця. До бета-лактамів належать підгрупи пеніцилінів, цефалоспоринів, карбапенемів та монобактамів. Подібність хімічної структури визначає однаковий механізм дії всіх β -лактамів (порушення синтезу клітинної стінки бактерій), а також перехресну алергію до них у деяких пацієнтів. З урахуванням високої клінічної ефективності та низької токсичності β -лактамі антибіотики складають основу антимікробної хіміотерапії на сучасному етапі, посідаючи провідне місце при лікуванні більшості інфекцій. Станом на 2003 рік, більше половини антибіотиків у продажу належали до β -лактамів.

Механізм дії антибіотиків ще недостатньо вивчено. Вважають, що пеніциліни гальмують певні етапи синтезу структур клітинної стінки прокаріотів. Тільки мікоплазми та археобактерії не чутливі до пеніциліну. Дуже важливою особливістю антибіотиків є те, що вони можуть бути токсичними відносно чутливих до них мікробів і водночас малотоксичними для організму людини та тварин. Антибіотики використовують в якості ефективних лікарських препаратів. Антибіотики останнім часом широко використовують з не лікувальною метою в якості добавок в корм молодняку тварин, птиці риби тощо. Наприклад, додавання кормового біоміцину підвищує швидкість росту тварин та яйценосність курей.

Відкриття та впровадження у промислове виробництво антибіотиків є одним із великих досягнень науки другої половини XX століття, оскільки це відіграло вирішальну роль у створенні сучасної мікробіологічної промисловості, яка ґрунтується на мікробіологічному синтезі. Розробка методів селекції продуцентів і технології виробництва антибіотиків дозволила розвинути на промисловій основі виробництво білка, амінокислот, ферментів, вітамінів та багатьох інших цінних продуктів.

Це цікаво знати

Фітонциди. Про лікувальні властивості вищих рослин було відомо ще в глибоку давнину, проте бактерицидну властивість рослинних виділень вперше було засвідчено Л.П.Токінім у 1928 році. Ці рослинні виділення було названо

фітонцидами(від грецького фіто-рослина, та латинського caedo- вбиваю).^{Lecture} Фітонциди – біологічно активні речовини, які виділяються рослинами для захисту і характеризуються бактерицидними, фунгіцидними і протистотоксичними властивостями. Б.П.Токін вперше звернув увагу на те, що фітонциди володіють антибіотичними властивостями. Разом з В.Г.Дроботько, Б.Ю.Айземан та іншими дослідниками він науково обґрунтував доцільність використання фітонцидів у медицині та інших галузях народного господарства.

Практично майже кожній рослині притаманні фітонцидні властивості, але не однакою мірою. Фітонцидними властивостями рослин користувалися та й надалі користуються всі культові релігії включаючи й православ'я. Найактивнішою бактерицидною дією характеризуються цибуля, часник, гірчиця, хрін, хвойні, алое, кропива, полин, черемха, горіх, евкаліпт, цитрусові тощо. Доскладу фітонцидів входять альдегіди, алкалоїди, глікозиди, хінони та ефірні масла.

Чимало антибіотичних препаратів рослинного походження використовуються в медицині (ароматотерапія), сільському господарстві, побуті, культових обрядах особливо на сході, тощо. Ці препарати виявляють бактерицидну дію на стрептококи, стафілококи, дифтерійну та туберкульозну паличку сальмонели. Фітонциди іманін новоіманін, виділені зі звіробію звичайного, виявилися високоактивними проти бактерій і вірусів рослин. Виділений з бавовника антибіотичний препарат госіползастосовується для лікування оперізуючого лишая, псоріазу та та інших вірусних захворювань.

Серед інших рослинних антибіотиків, які виявляють антимікробну дію, слід назвати: лютенарин, виділений з кореневищ глечиків жовтих (латаття), ксантин – із коноплі посівної, рафін – із редьки чорної, сальвін – із шавлії лікарської, хінін – з кори хінного дерева і хлорофіліт – з листя евкаліпту. Вважають, що фітонциди є одним з факторів імунітету рослин, також вони відіграють важливу роль у взаємовідносинах організму біоценозах. Один грам фітонцидів, виділених зеленими рослинами очищає від шкідливих мікроорганізмів кілька сот кубометрів повітря.

8.4. Харчові та кормові отруєння

Захворювання, які виникають у зв'язку зі вживанням харчових продуктів, інфікованих токсикогенними мікроорганізмами, називають харчовими. Забруднення харчових продуктів токсикогенними мікроорганізмами може відбуватися через руки персоналу харчових виробництв, закладів торгівлі та харчування, а також через бацило-, бактеріо-, та вірусоносіїв, що працюють в цих сферах; через повітря виробничих приміщень; через воду, яка не відповідає санітарним вимогам; через забруднену тару. Плоди та ягоди, овочі та фрукти забруднені при вирощуванні їх на ґрунтах, удобреній гною та фекаліями. М'ясо та молоко можуть бути заражені токсичною мікрофлорою, якщо вони одержані від хворих тварин.

Харчові захворювання за походженням та симптомами хвороби прийнято ділити на дві групи: харчові інфекції та харчові отруєння.

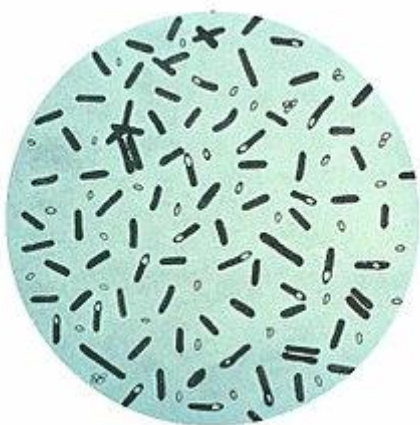
Харчові отруєння пов'язані зі вживанням в їжу зовні доброякісних продуктів, які містять живі клітини збудників чи їх токсини. Харчові отруєння,

як правило, шляхом прямого контакту не передаються. Вони характеризуються гострим , але в основному швидким перебігом процесу і проявляються незабаром після вживання зараженої їжі (зазвичай через кілька годин). Харчові отруєння можуть протікати або по типу інтоксикацій (токсикозу), або по типу токсикоінфекцій.

Харчові інтоксикації (токсикози) можуть виникати за відсутності в їжі живих клітин токсикогенних мікроорганізмів, але при наявності їх токсинів, які відносяться до екзотоксинів (отруйні речовини, що виділяються бактеріями в навколишнє середовище). Вони накопичуються в продуктах за життя бактерій, а потім (наприклад при тепловому обробі) клітини токсикогенних мікроорганізмів можуть загинути, а токсини залишаться не ушкодженими.

Харчові інтоксикації бувають бактеріальної та грибкової (цвілі) природи. До бактеріальної інтоксикації відносять ботулізм та стафілококові інтоксикації.

Ботулізм – це тяжке харчове отруєння, яке виникає в результаті вживання їжі, що містить токсини бактерій *Clostridium botulinum*. Ці бактерії широко розповсюджені в природі та зустрічаються в ґрунті , мулі водойм, кишківнику риби (особливо осетрових) теплокровних тварин, на поверхні плодів овочів та грибів. Потрапляючи будь яким шляхом в харчові продукти, збудник ботулізму в благо приємних умовах розмножується та виділяє токсин.. При цьому в продуктах, як правило, відсутні зовнішні ознаки псування.



Мал Збудник ботулізму (*Clostridium botulinum*.)

Збудник ботулізму - споро утворююча паличка, в якій спора розміщена в кінці клітини і вона набуває виду тенісної ракетки. Це строги анаероб, холодостійкий, чутливий до кислої реакції середовища (не розвивається при рН нижче 4,5-4). Кухонна сіль затримує його розвиток та токсиноутворення, але не руйнує уже утворений в продукті токсин. Спори дуже стійкі до високих температур, вони витримують нагрівання до 100°C на протязі 5-6 годин і до 120°C – 10-20 хвилин. Тому за недостатнього термічного обробітку забрудненого продукту (ковбас, баночних консервів тощо) спори можуть зберігати свою життєздатність, та в анаеробних умовах (наприклад в глибоких шарах продукту чи в консервній банці) можуть розвиватися як спори так і мікробна клітина.

Ботулістичний екзотоксин – найбільш сильний з відомих мікробних отрут. Цей токсин надзвичайно стійкий, він не руйнується під дією соляної кислоти шлункового соку, при тривалому нагріванні продукту до 70-80°C° (на протязі 1

години) та навіть зберігається при кип'ятінні на протязі 10-15 хвилин, а також при заморожуванні продуктів, маринуванні, солінні, коптінні. Lecture

Потрапляючи з їжою в шлунок людини, токсин всмоктується в кров та вражає серцево-судинну та центральну нервову систему. Інкубаційний період зазвичай становить 6-24 години та більше. Основні ознаки захворювання – розлад зору, мови та дихання, параліч м'язів. Смертність від ботулізму досить висока.

Враження організму ботулізмом частіше спостерігається при вживанні різного роду консервів, особливо рослинних з низькою кислотністю, рибних, особливо осетрових. Ефективним лікарським засобом є антиботулістична сыворотка. Профілактикою ботулізму являється дотримання технологічних режимів обробітку та консервування харчових продуктів та строге дотримання санітарно-гігієнічного режиму.

Стафілококова інтоксикація викликається далеко не всіма типами стафілококів, я лише патогенними стафілококами та стоїть на першому місці серед отруєнь бактеріальної природи. Харчові отруєння найчастіше викликає золотистий стафілокок (*Staphylococcus aureus*), який утворює в клітинах золотистий пігмент. Розвиваючись в харчових продуктах він може виділити ентеротоксин (кишковий яд).

Основне місце перебування золотистого стафілококу – слизова носоглотки та шкіра. Крім ентеротоксину, він виділяє інші токсини та викликає різні гнійно-запальні процеси будь якої тканини та в будь якому органі. Крім токсинів, стафілокок утворює ряд активних ферментів, які мають патогенні властивості, наприклад плазмокоагулазу, здатку коагулювати (звертати) плазму крові

Стафілококовий ентеротоксин виділяється як в аеробних, так і в анаеробних умовах, він стійкий до низьких та високих температур, висушування, високого вмісту кухонної солі (8-15%). Для повного руйнування необхідно кип'ятіння не менше 2 годин, або нагрівання протягом 30 хвилин за температури 120°C.

Отруєння проявляється у вигляді гострого шлунково-кишкового розладу через 1-6 годин після вживання зараженої їжі, смертельні випадки спостерігаються рідко. Характерною ознакою являється високий відсоток захворювань серед осіб, що вживали одну й ту ж їжу (90-100%).

Стафілококові харчові отруєння найчастіше викликають молочні продукти, а також м'ясні продукти. Ці отруєння можуть бути пов'язані зі вживанням рибних консервів в маслі, кондитерських виробів з заварним кремом. При цьому харчові продукти не мають зовнішніх ознак псування.

Стафілококова інфекція може передаватися особами, що страждають на гнійничкові захворювання шкіри або носіями стафілококової інфекції в носоглотці (ангіна). Перенесення стафілококів від людей на продукти відбувається повітряно-краплевим чи пиловим шляхом. На виробництві також перенесення інфекції відбувається через руки персоналу, апаратуру та інвентар. Подальший розвиток стафілококів в харчових продуктах залежить від багатьох факторів зовнішнього середовища. Вони можуть розмножуватися з 15-16°C та утворювати ентеротоксини. Швидкість накопичення токсину різко збільшується за температури 37°C. Тривалість накопичення токсину в кількості, достатньому для отруєння людини, залежить від характеру

Lecture

продукту. Всильно забрудненому заварному кремові за температури 37°C септеротоксин збирається через 4 години.

До інтоксикацій цвільі відносяться мікотоксикози – отруєння, причиною яких є токсини міцеліальних грибів (Цвіль). До харчових мікотоксикозів відносяться септична ангіна (аліментарно-токсична алейкія), та «п'яний хліб». Ці отруєння викликають різні види грибів з роду *Fusarium* з класу дейтероміцетів.

Септична ангіна пов'язана зі вживанням зерна гречки, проса пшениці, вівса, яке перезимувало в полі. Використання в їжу такого зерна та продуктів його переробки приводить до отруєння токсином, що виробляється цвілью тільки при низьких мінусових температурах від -1 до -5°C. Токсин має високу стійкість, не втрачає токсичності при тривалому зберіганні, не руйнується при термічному обробітці.

Отруєння проявляється в підвищенні температури, різких болях в роті та стравоході внаслідок розвитку некрозу (відмирання тканин), кровоточивості, пригнічення процесів кровотворення. Профілактика отруєння зводиться до недопущення вживання зерна, що перезимувало в полі.

Харчове отруєння «п'яний хліб» за симптомами нагадує тяжке зп'яніння. Воно виникає при вживанні хліба в основному приготовленому з борошна, що містить мікотоксин, який вражає нервову систему.

Ерготизм – отруєння, яке виникає при вживанні зерна, враженого спориньєю, коли в колосках замість зерна утворюються тверді «ріжки» в яких зберігається цвіль, де знаходиться токсини, що викликають сильні судороги або гангрену. Гостре отруєння спостерігається за вмісту спориньї в борошні в межах 1-2%. Профілактика – очищення зерна від спориньї.

Афлатоксикоз – захворювання, що виникає в разі вживання продуктів, які містять афлатоксини. Афлатоксини – продукти метаболізму мікроскопічних грибів із роду *Aspergillus*, *Rhizopus*. Усього виділено 12 афлатоксинів, вони термостійкі, погано розчинні у воді, руйнуються лише лугами. У харчових продуктах утворюються за різної температури, навіть за зберігання в холодильнику, але найактивніше за 22-30°C і вологості 85-90%. Афлатоксини знайдено в зернових, бобових і олійних культурах, горіхах, зернах какао та кави, хлібі, в запліснявілих продуктах, молоці, м'ясі, яйцях. Афлатоксини – дуже сильна отрута, яка уражує печінку, порушує ферментний статус організму, має канцерогенні, тератогенні і мутагенні властивості в разі хронічної інтоксикації. Виявлено зв'язок між частотою захворювань первинним раком печінки і вмістом афлатоксину в харчових продуктах. З метою профілактики афлатоксикозів необхідно дотримуватися відповідних правил зберігання зерна, виключаючи можливість його зволоження, самозігрівання, та пліснявіння.

Харчові токсикоінфекції викликають сальмонели. Сальмонели не утворюють спор, однак стійкі до дії низьких температур, кислот, висушування, коптіння. Кухонна сіль в концентрації 6-8% пригнічує їх розвиток, а в концентрації 10-12% подавляє. Сальмонели стійкі до теплового обробітку.

Сальмонели знаходяться в шлунково-кишковому тракті багатьох тварин, особливо у великої рогатої худоби, водо плаваючої птиці та гризунів. Тому м'ясо, риба, яйця та молоко найчастіше є причиною отруєння. Забруднення продуктів може відбуватися не лише за життя, але й при розробці, транспортуванні та зберіганні продуктів.



Мал. Сальмонела

Зміни органолептичних властивостей в заражених продуктах не спостерігається.

Загальні заходи щодо запобігання виникненню харчових отруєнь мікробного походження:

1. Здійснення санітарного та санітарно-ветеринарного нагляду і контролю за процесами забою тварин, виловлювання й оброблення великої риби, виробництва ковбасних виробів;
2. Контроль за виготовленням кондитерських і хлібобулочних виробів;
3. Контроль за виготовленням, зберіганням і реалізацією готових страв у їдальнях, харчоблоках дитячих установ, буфетах і закладах громадського харчування;
4. Запобігання забрудненню харчових продуктів і сировини мікроорганізмами;
5. Забезпечення належних санітарно-гігієнічних умов, які виключають можливість розмноження мікроорганізмів в їжі й утворення токсинів; дотримання поточності технологічного процесу, що виключає контакт сировини та сирій продукції з готовими виробами на всіх етапах виробництва;
6. Максимальна автоматизація і механізація виробничих процесів на харчових підприємствах;
7. Забезпечення виробництва справним холодильним обладнанням; використання лабораторних методів контролю за якістю харчової продукції і теплового оброблення;
8. Дотримання санітарно-гігієнічних правил та умов отримання, зберігання і транспортування молока, якості оброблення молочного посуду, обладнання та інвентарю, режиму пастеризації, технології виготовлення молочної продукції;
9. Ефективне проведення планових дератизаційних заходів; бактеріологічний контроль щодо харчових продуктів, дотримання санітарно-гігієнічного режиму й особистої гігієни персоналом;
10. Дотримання умов зберігання та термінів реалізації харчових продуктів, встановлених режимів теплового оброблення їжі, особливо із субпродуктів, фаршу, яєць, виготовлення холодцю, котлет, ліверних і кров'яних ковбас, салатів, тістечок.

Це цікаво знати

Симптоми харчового отруєння: загальне нездужання, урчання у животі, нудота, блювота, діарея, біль та різі у животі, можливо підвищення

температури тіла, головний біль, слабкість, спрага, блідість шкіряних покривів.

При прогресуванні клініки харчового отруєння розвивається різке збездоднення організму, біль і судоми в кінцівках, слабкий, частий пульс.

При підозрі на ботулізм до перерахованої вище симптоматики харчового отруєння приєднуються: порушення зору (косоокість, двоїння у власних очах, короткозорість), порушення ковтання (поперхивание, вихід рідкої їжі через ніс) і прогресуюча м'язова слабкість.

Перша допомога при отруєнні.

Промити постраждалому шлунок шляхом викликання блювоти: дати їй випити близько 1 літра води (а краще – слаборожевого розчину калію перманганату (марганцівки), при підозрі на ботулізм – 2% содового розчину), та викликати блювання шляхом роздратування задньої стінки горлянки і кореня язика. Після цього дати постраждалому активоване вугілля з розрахунку 0,5-1г на 10кг його ваги. Прийняти солевое проносне (наприклад, сульфат магнію). Зробити очисну клізму. Дати рясне тепле питво. Виключити будь-яке харчування.

При неефективності проведених заходів, погіршенні стану хворого й за першого ознаках ботулізму негайно викликати «Швидку допомогу»

Під час втрати свідомості, але присутності у постраждалого пульсу й дихання, покласти його в правильне положення, що дозволить вільно дихати і попередить можливість задухи чи вдихання блювотних мас. Таким положенням є положення лежачи на животі, голова на бік. Воно необхідне постраждалому в тому разі, якщо є пульс і збережено дихання.

За відсутності у постраждалого дихальної і (чи) серцевої діяльності розпочати проведення серцево-легеневої реанімації – штучне дихання і непрямий масаж серця.

Зберегти залишки їжі, що викликала харчове отруєння, щоб передати їх на аналіз.

Що не можна робити при отруєнні.

Залишати постраждалого на самоті. Залишати постраждалого без першої допомоги, що може спричинити посилення інтоксикації, швидкому розвитку серцево-судинної недостатності і навіть смерті. Приймати будь яку їжу протягом 1-2 діб. Приймати знеболюючі.

Профілактика харчових отруєнь

- не вживати продукти і напої при найменшій підозрі щодо їх недоброякісності та з протермінованими термінами споживання;

- не купувати продукти харчування на стихійних ринках або з рук у приватних осіб;

- не готувати страви із запасом; приготовлені страви бажано вживати відразу, зберігання виготовленої страви без холоду не повинно перевищувати 2 години;

- при споживанні овочів, фруктів та ягід їх необхідно добре промити питною водою, а при споживанні дітьми - обдати окропом;

- не використовувати для пиття, приготування їжі та миття посуду воду з незнайомих джерел водопостачання (ріки, озера, підземні джерела, поверхневі води тощо);

- для пиття і приготування їжі використовувати воду тільки з централізованих джерел водопостачання або питну бутильовану;
- перед приготуванням їжі та перед її вживанням завжди мити руки з милом; обов'язково мити руки після відвідування туалетів;
- при відпочинку з дітьми батьки повинні ознайомити дітей з правилами харчування та правилами дотримання особистої гігієни; дорослим необхідно ретельно слідкувати за тим, щоб діти не споживали незнайомі ягоди та продукти;
- для купання та відпочинку слід користуватися лише офіційно дозволеними пляжами;
- вести боротьбу з мухами.

Питання для самоконтролю.

1. Опишіть схему одержання мікробного білка та амінокислот.
 2. Які мікроорганізми використовують для одержання вітамінів?
 3. Що таке антибіотики та який їх вплив на живі організми?
 4. Які властивості збудників харчових отруєнь?
 5. Як впливає на організм людини отруєння стафілокової природи?
- Перелічіть загальні заходи щодо запобігання виникненню харчових отруєнь мікробного походження.

ТЕМА 9. ІНФЕКЦІЯ ТА ІМУНІТЕТ

План

1. Патогенність, вірулентність і токсичність патогенних мікроорганізмів.
2. Збудники інфекційних хвороб та засоби боротьби з ними.
3. Види імунітету.

9.1 Патогенність, вірулентність і токсичність патогенних мікроорганізмів

Однією із форм антагоністичних взаємовідносин між мікро- та макроорганізмами є паразитизм, коли мікроорганізми приносять шкоду макроорганізму господаря (людині, тварині та рослині). Здатність до паразитизму мають патогенні мікроорганізми, які викликають різні захворювання. В процесі адаптації до паразитичного способу життя вони втратили здатність до утворення цілого ряду ферментів та стали використовувати необхідні їм сполуки з живих клітин господаря.

Питання про природу інфекційних захворювань людини, тварин і рослин здавна цікавили багатьох дослідників. Завдяки відкриттям Л.Пастера, обґрунтуванню значення хвороботворних мікроорганізмів у виникненні різних хвороб, ідентифікації їх, вдалося правильно підійти до розкриття суті цієї надзвичайно важливої проблеми.

Інфекцією (лат. Infectio - зараження) називають складні біохімічні процеси, які виникають в організмі людини, тварини або рослини в результаті проникнення і розмноження в ньому патогенних мікроорганізмів – збудників хвороби. Історично сформована взаємодія сприйнятливого людського організму

і патогенного мікроорганізма за певних умов середовища дістала назву інфекційного процесу. З біологічної точки зору інфекційний процес є різновидом паразитизму.

Між організмом хазяїна та мікробами, які проникли в нього, відбувається складна боротьба. Якщо організм не може протистояти патогенним мікробам і нейтралізувати їхню шкідливу дію, а зовнішнє середовище сприяє розвитку мікроорганізмів, виникає інфекційне захворювання.

Отже, для виникнення та розвитку інфекційного процесу необхідні три складники: а) наявність патогенних мікроорганізмів; б) можливість проникнення його в сприятливий макроорганізм; в) певні умови зовнішнього середовища, в якому відбувається взаємодія між мікро- та макроорганізмом.

Проникнення в макроорганізм патогенного мікроба не завжди призводить до захворювання; в багатьох випадках воно обмежується короточасними інфікуваннями без прояву хвороби або відносно тривалим носінням збудників інфекції макроорганізмом. Саме тому інфекція може траплятися набагато частіше, ніж інфекційні хвороби.

Джерелом інфекції є заражений організм людини або тварини. Розрізняють такі шляхи передачі інфекції від людини:

1. Контактно-побутовий шлях, коли захворювання передається безпосередньо, чи через предмети, що оточують хворого.
2. Повітряно-крапельний шлях, коли інфекція передається через крапельки слини, що потрапляють у повітря при розмові, чханні, кашлі. Туберкульоз, грип, коклюш, кір, дифтерія тощо).
3. Передача інфекції через воду, в яку потрапили мікроби з виділеннями хворих (холера, черевний тиф, дизентерія тощо).
4. Через заражені харчові продукти. 5. Через укуси кровососних комах.
6. Через ґрунт. (кишкові захворювання, правець).

Патогенність – це потенційна здатність певного виду мікробів приживатися в макроорганізмі, розмножуватися та викликати певні захворювання. Патогенність є постійною видовою властивістю хвороботворних мікроорганізмів.

Для порівняння та оцінки патогенності збудників захворювання запропоновано поняття вірулентності, яке означає ступінь їх хвороботворної дії. Вірулентність не являється видовою (постійною) ознакою даного мікроорганізма. Під впливом умов зовнішнього середовища (дія світла, висушування, заморожування тощо) вона може бути підвищеною, зниженою, або зовсім втраченою. Штучне пониження вірулентності патогенних мікроорганізмів широко застосовується при виготовленні вакцин, що використовуються для профілактики ряду інфекційних захворювань. Вірулентність притаманна тільки живим, активно функціонуючим клітинам.

Токсигенність – здатність патогенних мікроорганізмів виробляти ядовиті речовини – токсини. Такі мікроорганізми називаються токсигенними. Токсини обумовлюють хворобливі явища в організмі людини та тварин. Поступаючи в кров чи лімфу, вони вражають внутрішні органи та викликають отруєння організму різного ступеню важкості. Токсини підрозділяються на екзо- та ендотоксини.

Екзотоксини виділяються тільки живими клітинами мікроорганізмів в навколишнє середовище в процесі розвитку молекул в макроорганізмі чи харчових продуктах. Екзотоксини утворюють тільки грам позитивні бактерії. Прикладом екзотоксинів є токсин золотистого стафілококу, збудника ботулізму, стовбняку. Ці токсини мають білкову природу, як правило нестійкі до високої температури. Виключення токсини бутулістичної палички та стафілококу. Ці токсини вкрай токсичні. Наприклад, людина гине від 0,00025 г токсину стовбняку, що в 20 разів менше смертельної дози яду кобри і в 150 разів менше смертельної дози стрихніну.

Екзотоксини строго специфічні. Так, стовбнячний токсин – типовий нервовий яд, вражає рухливі нервові клітини і в людини настає скорочення мускулатури; дифтерійний токсин вражає м'язи серця. В макроорганізмах в якості зворотної дії виробляються антитоксини, які знижують токсичність екзотоксинів.

Ендотоксини міцно зв'язані з мікробною клітиною, за життя мікроорганізма вони не виділяються в зовнішнє середовище та звільняються тільки після його загибелі. Вони є тільки в грам негативних бактерій, наприклад у сальмонел – збудників черевного тифу та паратифів, а також в умовно-патогенних мікроорганізмів – у деяких різновидів кишкової палички та протей. Ендотоксини за хімічною природою – це ліпополісахаридний комплекс, що входить до складу ліпополісахаридного шару клітинної стінки грам негативних бактерій.

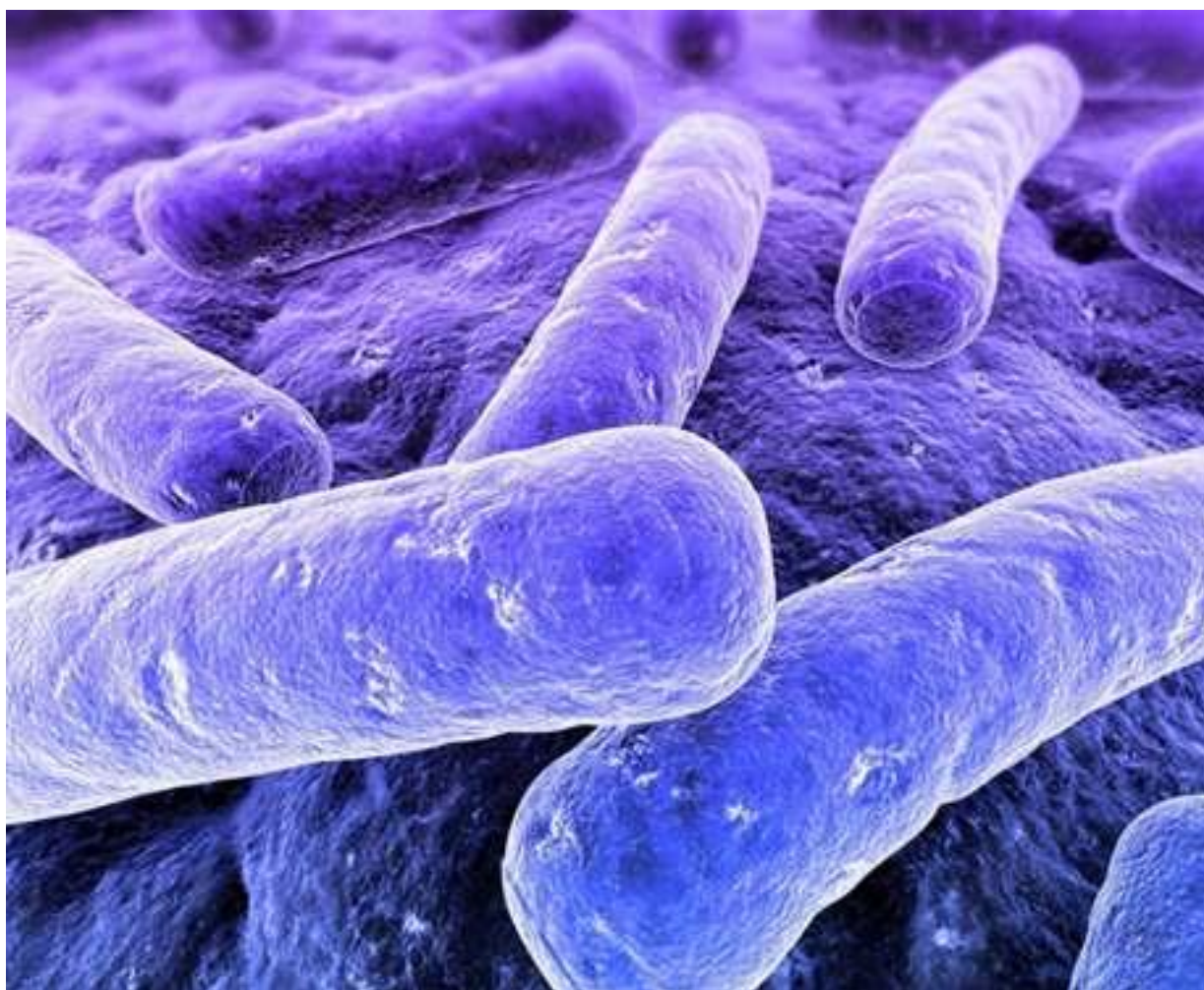
Ендотоксини на відміну від екзотоксинів більш стійкі до високої температури. Вони не мають такої строгої специфічності дії та викликають загальні ознаки отруєння: головний біль, слабкість, віддишу, підвищення температури тощо. Токсичність ендотоксинів для організму людини гатаздо слабша, ніж екзотоксинів.

9.2 Збудники інфекційних хвороб та засоби боротьби з ними



У 1882 році Р.Кох відкрив туберкульозну паличку – збудника інфекційного захворювання, яке має хронічний перебіг у людини, свійських та диких тварин, птахів – туберкульозу. Це пряма, або дещо зігнута паличка з заокругленими кінцями завдовжки 1-4 мкм. Туберкульозні палички нерухомі, іноді вони мають здуття на кінцях; спор та капсул не утворюють, грам позитивні, досить стійкі до високої температур, висушування, кислот.

У поширенні цієї хвороби особливо важливу роль відіграють умови життя. Війни, голод, безробіття, економічні кризи, стихійні лиха тощо спричиняють різке зростання захворювання на туберкульоз населення. Сучасна економічна криза в Україні ще раз підтвердила цю істину. З 1991 по 2001 рік кількість хворих на туберкульоз у нашій країні збільшилась майже у 2 рази.



Мал. Туберкульозна паличка (Паличка Коха)

Одна з найдавніших відомих інфекційних хвороб людини – холера. Збудники її – бактерії, що за формою нагадують кому. Відкрив збудника холери Р.Кох. Холерний вібріон належить до грам негативних бактерій, не утворює капсул та спор, нерухливий, монотрих.

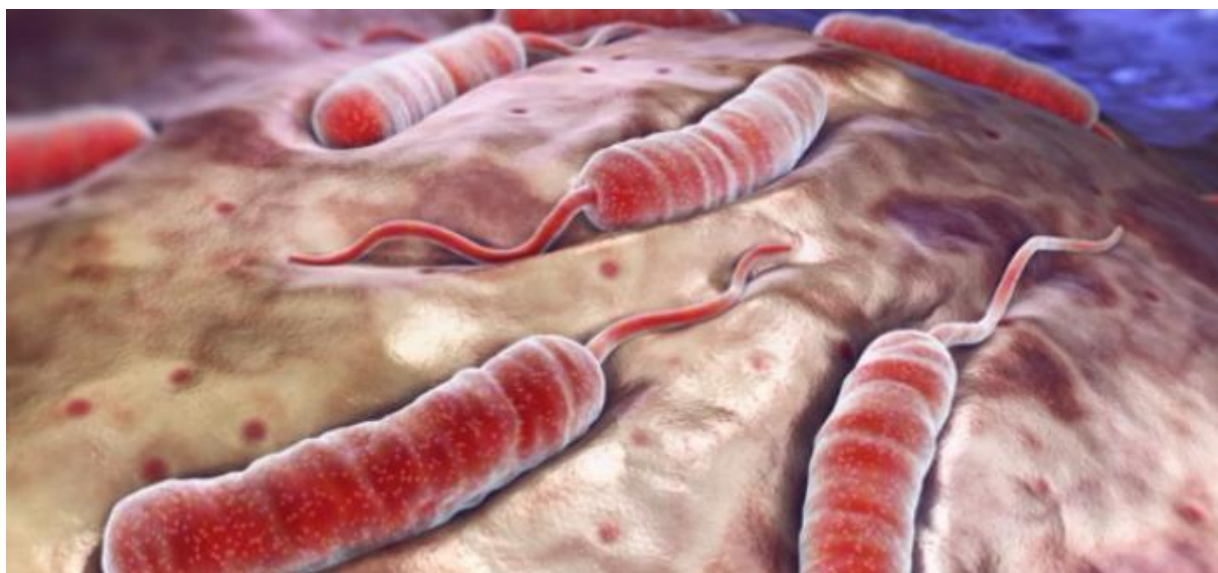
ХОЛЕРА

Збудник –
холерний вібріон



Холерні вібріони утворюють екзотоксин холероген. Збудники холери при зниженні температури можуть зберігатися в ґрунті до 2 місяців, у випорожненнях – до 5 місяців, а в морській та річковій воді до 10 діб.

Епідемії холери не припиняються і дотепер. Так, наприкінці січня 1991 року вона почалася в Перу, а до кінця червня в семи країнах Латинської Америки на холеру захворіло близько мільйона чоловік, три тисячі з яких померло. У 1994 році в Дагестані епідемія холери захопила майже всі райони; десятки людей померло від цієї тяжкої недуги. Останніми роками холера з'явилася і в Україні – в Криму, Одеській та Миколаївській областях. Мал. Збудник холери



Дифтерія – збудники дифтерійні коринебактерії – прямі або злегка зігнуті

палички, поліморфні, грам позитивні, не спороносні аеробні або факультативно анаеробні організми; в бульйонній культурі утворюють сильні екзотоксини. Джерелом інфекції є хворі на дифтерію і носії. Хвороба передається повітряно-крапельним способом, а також через різні предмети.

У 90 роках в Україні різко зростає захворюваність населення на дифтерію. Так влітку 1993 року було зареєстровано біля 2 тисяч інфікованих, з яких 50 чоловік померло, у тому числі 15 дітей. В Україні було объявлено надзвичайний стан, і тільки масова імунізація стала надійним заслоном проти епідемії.

ЧУМА



**Збудник –
чумна бацила**

Переносчик - блохи





Харчові інфекції – це захворювання, при яких харчові продукти є лише переносниками токсигенних мікроорганізмів, в них вони не розмножуються, але

можуть тривалий час зберігати життєздатність та вірулентність (токсичність). Для виникнення захворювання достатнє невеликого вмісту в продуктах клітин-збудників захворювання, які потрапивши в макроорганізм, активно розмножуються та викликають певні захворювання.

Харчові інфекції протікають, як типові інфекційні хвороби з відносно тривалим інкубаційним періодом та характерними для кожного захворювання клінічними ознаками. В основному це кошкові інфекції – черевний тиф, паратифи А та В, дизинтерія, холера.

Збудники цих захворювань за виключенням холери входять до кошкової групи бактерій. Джерелом кишкових інфекцій є людина.. Збудники виділяються в зовнішнє середовище з фекаліями, які потрапляють у воду з побутовими стоками та на харчові продукти. Значу роль в розповсюдженні кишкових хвороб відіграють мухи.

Тривалість виживання збудників кишкових інфекцій в різних харчових продуктах подано нижче.

Назва продукту	Тривалість зберігання
Збудник черевного тифу	
Морожено	Від 4 міс до 2 років
Хліб чорний	До 2 діб
Хліб білий	25-30 діб
Масло вершкове	3-7 місяців
Сир	36 діб
Молоко (за температури 0°C)	5 місяців
Збудники паратифів	
Молоко	1-2 тижні
Молоко згущене	2-5 місяців
Кефір	5 місяців
Збудники дизинтерії	
Салат	6 діб
Огірки	6-17 діб
Ягоди	2-6 діб

Багато з цих збудників досить стійкі до дії низьких температур та заморожування (в клубниці при температурі -18°C черевнотифозні бактерії зберігають життєздатність на протязі 6 місяців.

Особи, що перенесли кишкові інфекції тривалий час залишаються носіями цих інфекцій.

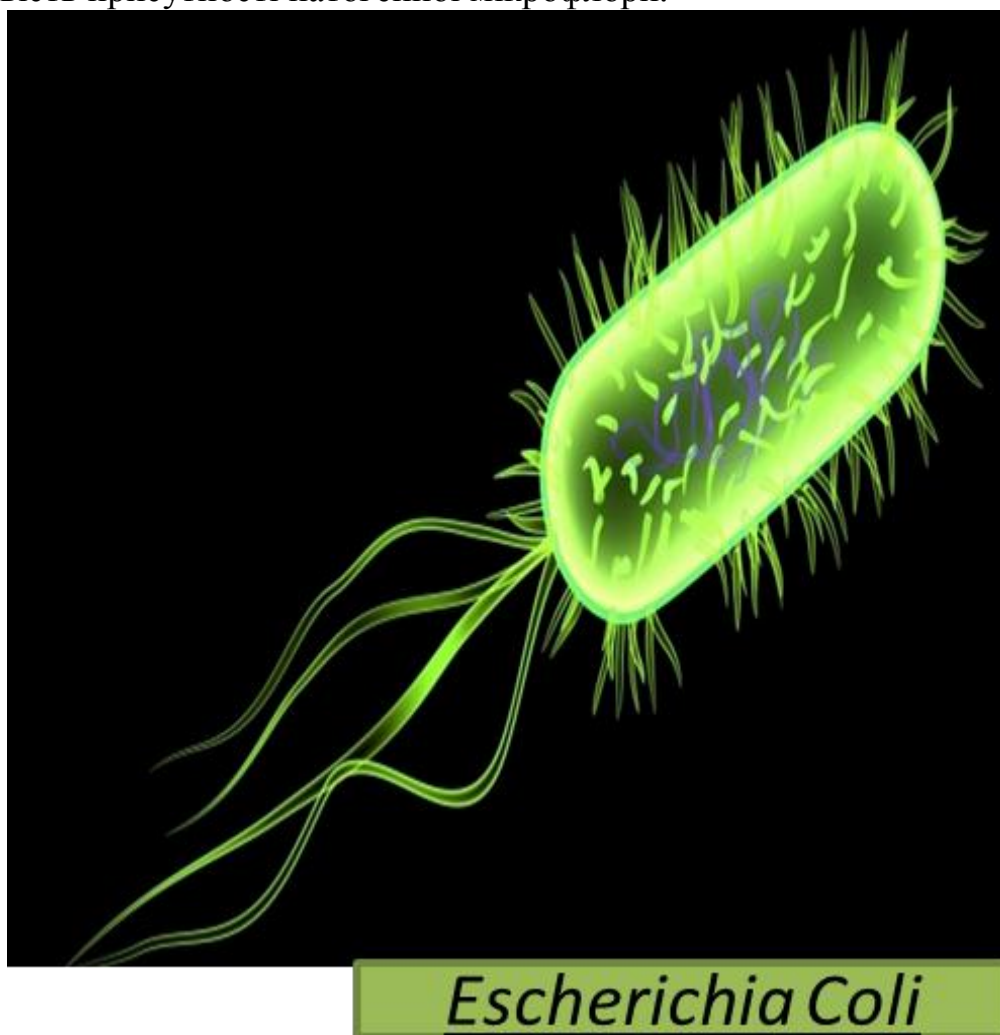
Профілактика кишкових інфекцій зводиться до дотримання санітарно-гігієнічних правил та режимів на виробництві та правил особистої гігієни, запобіганні контакту продуктів з носіями кишкових інфекцій та боротьбі з мухами.

Крім кишкових інфекцій до харчових інфекцій відносяться бруцельоз, туберкульоз, ящур та сибірська язва.

Санітарно показові мікроорганізми.

Швидко та безпосереднє виявлення в об'єктах зовнішнього середовища (вода, повітря, харчові продукти) патогенних мікроорганізмів здійснити досить важко, так як їх кількість дуже мала в порівнянні з сапрофітною мікрофлорою досліджуваних об'єктів. Тому можливе забруднення їх патогенними мікроорганізмами визначають опосередковано - на основі кількісного та якісного обліку санітарно-показових мікроорганізмів.

До санітарно-показових мікроорганізмів відносяться кишкова паличка, гемолітичні (розчиняючі еритроцити крові) стрептококи та стафілококи. Вони є постійними мешканцями порожнин тіла людини, тварин. Присутність санітарно-показових мікроорганізмів в об'єктах зовнішнього середовища вказує на забруднення їх виділеннями людського організму та тварин, а відповідно й можливість присутності патогенної мікрофлори.



Мал Кишкова паличка

Кишкова паличка (*Escherichia coli*) є постійним мешканцем товстих кишок, не шкідлива для людини. Вона є показником фекального забруднення води та харчових продуктів, що свідчить про можливість вмісту збудників важких кишкових інфекцій (дизинтерії, черевного тифу, паратифів, тощо), які виділяються з хворого організму, чи носія інфекції в зовнішнє середовище (також з фекаліями). Для санітарно-ігієнічної оцінки води, харчових продуктів та інших об'єктів необхідно не лише установити вміст в них кишкової палички, але в ріді

випадків провести кількісний облік цих бактерій. Інтенсивність фекального забруднення характеризується двома показниками: колі-титром та колі-індексом.

Колі-титр – найменша кількість дослідного матеріалу (об'єм, маса), в якому виявлено одну кишкову паличку. Чим менша величина колі-титру, тим небезпечніше даний об'єкт в епідеміологічному відношенні.

Колі-індекс – це кількість кишкових паличок в одиниці об'єму (маси) досліджуваної речовини.

Гемолітичні стрептококи та стафілококи це простійні мешканці слизових оболонок рото глотки. Їх вміст вказує на забрудненість повітряного середовища та деяких продуктів мікрофлорою дихальних шляхів, серед яких можуть бути збудники ангіни, коклюшу, туберкульозу тощо, що потрапляють туди при кашлянні, чханні тощо.

Чим більший вміст санітарно-показових мікроорганізмів в досліджуваному об'єкті, тим більше заражені виділеннями людини та тварин й тим більш ймовірно, що в ньому містяться патогенні мікроорганізми – збудники інфекційних захворювань.

9.3 Види імунітету

Ще в глибоку давнину було відомо, що людський або тваринний організм, який переніс ту чи іншу інфекційну хворобу, вдруге на неї майже ніколи не хворіє. З розвитком мікробіології виявилось також, що проникнення в організм збудника інфекції не завжди приводить до захворювання. Це залежить від багатьох причин і насамперед від фізіологічного стану організму. За нормального стану організм виявляє активну специфічну стійкість проти того чи іншого виду інфекції.

Стан організму за якого він протистоїть шкідливій дії патогенних мікроорганізмів, їхніх токсинів або будь яких інших сторонніх тіл, називається імунітетом (від латинського *immunitas* – звільнення). Видатний вітчизняний вчений І.І.Мечников головну роль в природженій та набутій несприйнятливості до інфекцій відводив організмові та його специфічним клітинам – фагоцитам. «Під несприйнятливістю до заразних захворювань, - писав він, - потрібно розуміти загальну систему явищ, завдяки яким організм може витримувати напад хвороботворних мікробів».

До 1885 року у вивченні імунітету визначалися два конкуруючі напрямки. Перший очолював І.І.Мечников. Він розвивав теорію клітинного імунітету і розглядав фагоцитоз як основний фактор захисту організму від інфекції. Представником другого напрямку був П.ю Ерліх, який вважав, що основним захисним механізмом від інфекції є гуморальні фактори сироватки крові. Інтенсивні дослідження цієї проблеми ще до кінця XIX ст. показали, що ці дві точки зору є протилежними, а доповнюють одна одну. В 1908 році І.І.Мечников і П. Ерліх за розробку вчення про імунітет були удостоєні Нобелівської премії

Тепер наука імунологія вивчає широке коло біологічних явищ: механізм захисту від інфекцій, пухлин, встановлення генетичних зв'язків тваринами та рослинами, питання імуногенетики тощо. Розрізняють два види імунітету – вроджений та набутий.

Імунітет



Людину від народження оточує середовище, насичене бактеріями, вірусами та іншими мікробами – які є збудниками різних хвороб у людини. Але не так усе страшно як здається, захист нашого організму забезпечує імунітет.

Імунітет — це сукупність захисних механізмів організму, що спрямовані на підтримку його генетичної сталості. Імунітет допомагає організмові боротися з різними чужорідними чинниками: бактеріями, вірусами, отрутами, сторонніми тілами тощо. Імунні реакції є причиною відторгнення пересаджених тканин та органів.

Вроджений (видовий, спадковий) імунітет це несприйнятливість деяких видів тварин до збудників хвороб, що вражають інші види. Він передається спадковим шляхом від одного покоління до другого, як і інші спадкові ознаки. Наприклад люди несприйнятні до збудника чуми великої рогатої худоби та собак, курячої холери, а тварини стійкі до ряду інфекційних хвороб людини (черевного тифу, скарлатини, вітряної віспи тощо).

Набутий імунітет по спадку не передається. Він, в свою чергу, рідко розділяється на активний та пасивний. Активний виникає або в результаті перенесеного захворювання (постінфекційний), або в результаті введення вакцини (поствакцинальний). В обох випадках макроорганізм активно бере участь в формуванні захисних властивостей, виробляються захисні речовини (антитіла) проти збудника та його токсину. Активний імунітет, набутий після перенесення захворювання, зберігається тривалий час, а інколи і все життя (після віспи та рору). Вакцина – це медичний препарат, до складу якого входять ослаблені або вбиті збудники інфекційних хвороб, а також їх знезаражений токсин (анатоксин). Після вакцинації організм виробляє через 2-10 діб активний імунітет, що може зберігатися від кількох місяців, до року та більше. До пасивного імунітету відноситься природний імунітет новонароджених, коли імунітет передається їм з кров'ю матері через плазму чи молоко (він зберігається 6-7 місяців). Штучний імунітет (постсывороточний), який набувається при введенні імунних вивороток – лікарських препаратів, що містять готові антитіла.

- Розрізняють природжений і набутий імунітет. За природженого імунітету антитіла присутні в організмі з народження, вони успадковуються від батьків. Наприклад, людина не хворіє на ящур чи холеру корів. Набутий імунітет виникає після того, як людина перехворіє на якийсь інфекційне захворювання. Так, перехворівши на коклюш, кір, вітрянку, віспу, людина, як правило, не хворіє на ці хвороби повторно, бо в організмі утворилися антитіла, що відновлюються впродовж усього життя.



Механізм виникнення імунітету надзвичайно складний. Установлено, що в макроорганізмі у відповідь на проникнення патогенних мікроорганізмів виникає місцеве запальне явище, куди направляються різні рухомі клітинки крові (макро-мікрофаги), які в врешті захоплюють та перетравлюють патогенні мікроорганізми, тим самим рятують макроорганізм.

Питання для самоконтролю.

1. Дайте визначення поняття інфекція, патогенність, вірулентність мікроорганізмів
2. Розрізняють шляхи передачі інфекції від людини.
3. Назвіть збудників інфекційних хвороб та засоби боротьби з ними.
4. Які мікроорганізми відносять до санітарно показових?
5. Що таке імунітет та чим він обумовлений?
6. Перелічіть види імунітету.

ТЕМА 10. МІКРОБІОЛОГІЯ ХЛІБОПЕКАНОГО ВИРОБНИЦТВА

План

1. Характеристика мікроорганізмів, що використовуються в хлібопекарській промисловості.
2. Мікроорганізми – шкідники хлібопекарського виробництва.
3. Хвороби хліба та способи їх попередження.
4. Мікробіологічний контроль хлібопекарського виробництва.
5. Санітарно-гігієнічний режим хлібопекарського виробництва.

10.1. Характеристика мікроорганізмів, що використовуються в хлібопекарській промисловості.

В хлібопекарському виробництві мікроорганізми відіграють подвійну роль: дріжджі та молочнокислі бактерії спеціально використовують для приготування тіста, а мікроорганізми, що потрапляють з сировиною, із зовнішнього середовища є шкідниками. Вони знижують якість сировини, викликають порушення ходу технологічного процесу та псування готової продукції, можуть стати причиною харчових отруєнь.

Технологія приготування тіста з житнього та пшеничного борошна та комплекс мікроорганізмів, що беруть участь в цих процесах, різняться.

Мікроорганізми, що використовуються для одержання тіста з пшеничного борошна - пресовані чи сухі дріжджі, а також рідкі дріжджі та рідкі пшеничні закваски, що виготовляють безпосередньо на підприємствах. Деякі пекарні використовують суміш пресованих та рідких дріжджів.

Хлібопекарні дріжджі повинні бути стійкими до високої концентрації кухонної солі (до 3-4%) та цукру в тісті, добре розмножуватися при оптимальних значеннях рН 4,5-5 та при температурі 26-28°C, мати високу бродильну енергію (Мальтазна та зімазна активність), так як в тісті з пшеничного борошна накопичується в основному цукор мальтоза. Вуглекислий газ що утворюється при інтенсивному бродінні розрихлює тісто, і воно збільшується в об'ємі. Крім вуглекислого газу та спирту дріжджі накопичують рід побічних продуктів бродіння (ацетон, діацетил, ефіри тощо), що надають приємний смак та аромат готовим виробам.

Пресовані дріжджі використовують для випікання здобних та булочних виробів з борошна вищого ґатунку. Окремі підприємства можуть використовувати їх для приготування тіста з борошна другого сорту. Крім пресованих дріжджів використовують також дріжджове молочко з вмістом пресованих 500-600 г в 1 літрі. Сухі дріжджі перед використанням розмочують в воді активують - приводять мікроорганізми в життєздатний стан.

Рідкі дріжджі використовують при випіканні значної кількості хліба з пшеничного борошна вищого, першого та другого ґатунку, а також житньо-пшеничного борошна. Особливо добре вони себе зарекомендували при використанні борошна з пониженими хлібопекарськими властивостями. Ці дріжджі мають високу мальтозну активність. Кожне підприємство готує рідкі дріжджі тільки для потреб власного підприємства. За раціональною схемою в якості поживного середовища для розмноження дріжджів використовують пшеничне борошно другого сорту, попередньо заварене гарячою водою та оцукрення ферментними препаратами (амілорізином) грибового походження, або солод (пророщене зерно). В результаті процесу оцукрення крохмалю борошна перетворюється в основному в мальтозу, яка під впливом ферменту мальтози перетворюється в глюкозу. Глюкоза потім піддається спиртовому та молочнокислому бродінню.

Одержане після цього середовище (закваску) заквашують за допомогою чистої культури гомоферментативних термофільних молочнокислих бактерій – палички Дельбрюка (*Laktobacillus delbrueckii*) штамами 30, 31, 30-1, 30-2.

Температурний оптимум для кислото утворення у цих штамів 48-52°C. Розмножуючись, бактерії швидко підвищують кислотність середовища, тим самим створюють умови, благоприємні для розвитку дріжджів та пригнічуючи життєдіяльність сторонніх мікроорганізмів, що перебувають в тісті. Потім в цю закваску вводять дріжджі, вони повільно розмножуються, зброджуючи цукри, а життєдіяльність молочнокислих термофільних бактерій припиняється і в подальшому нарощування кислотності не спостерігається. Таким чином, рідкі дріжджі – це активна культура дріжджів, вирощених на попередньо оцукреній і заквашеній термофільними молочнокислими бактеріями борошняній заварці.

В якості чистих культур для приготування рідких дріжджів використовують різні раси, що виділили попередньо з рідких заквасок або рідких дріжджів на хлібозаводах. Всі вони відносяться до виду *S. cerevisiae*.

Рідкі пшеничні закваски – це активна культура дріжджів, також вирощена на попередньо оцукреній та заквашеній борошняній заварці, але, на відміну від рідких дріжджів, заквашування здійснюється не термофільними, а мезофільними молочнокислими бактеріями. Оптимальною температурою для кислото утворення є 28-32°C.

Закваски складаються з чистих культур гомо ферментативних бактерій *Lactobacillus plantarum* (штам AG) та гетеро ферментативних культур *L. Brevis* (штами И8, В27) та дріжджів раси Ленінградська-90. Гетероферментативні молочнокислі бактерії поряд з кислотами, що покращують смак та аромат хліба, утворюють діоксин вуглецю і також приймають участь в розрихленні тіста.

Пшеничний хліб, виготовлений на рідких дріжджах та рідких заквасках, має не лише більш приємний смак, а й рідше спостерігається тягуча хвороба повільніше черствіє в порівнянні з хлібом, виготовленим на пресованих дріжджах. В ньому міститься незначна кількість молочнокислих бактерій, що потрапляють з борошном, і їх участь в дозріванні тіста незначна.

Житній хліб готують на рідких та густих заквасках. Вони, як і закваски для пшеничного хліба, містять змішані культури дріжджів та молочнокислих бактерій. В цих заквасках співвідношення молочнокислих бактерій та дріжджів становить 80:1 (в заквасках для пшеничного борошна – 30:1), відповідно важливіша роль при дозріванні тіста належить молочнокислим бактеріям.

Гарний за смаком та ароматний житній хліб одержують за використання гомо- та гетероферментативних молочнокислих бактерій та дріжджів.

Рідкі закваски готують на оцукреному рідкому середовищі з житнього борошна з використанням чистих культур двох видів дріжджів-сахароміцетів *S. cerevisiae* та *S. minor*, останні мають більш низьку бродильну активність, але вирізняються більшою кислотостійкістю.

До складу рідких заквасок входить досить широкий набір різних штамів гомо ферментативних молочних бактерій виду *L. Plantarum*, *L. Brevis* та *L. Fermentum*. Технологічні схеми приготування рідких заквасок для житнього тіста передбачають певну комбінацію чистих культур цих рас та штамів дріжджів з молочнокислими бактеріями.

Для густих заквасок в якості збудників спиртового бродіння використовують три штами дріжджів *S. Minor* – штам 12/17, штам 7, чорно річний, а також вводять суміш чистих культур молочнокислих бактерій *plantarum* і *L. Brevis*.

Висока кислотність житнього тіста (рН 4,2-4,3) перешкоджає розвитку в тісті та хлібові збудників тягучої хвороби.

Життєдіяльність дріжджів та молочнокислих бактерій починається на стадії замішування тіста, досягає найвищої активності в стадії бродіння (дозрівання) тіста, на наступних стадіях (поділ та розстойка) їх активність дещо слабшає, а при випіканні зовсім припиняється і вони гинуть при дії високих температур.

10.2. Мікроорганізми – шкідники хлібопекарського виробництва

Джерелами сторонньої мікрофлори є сировина, вода, повітря технологічне обладнання, тара та персонал.



Різноманітна сировина, що використовується у хлібопекарному виробництві, завжди буває забруднена мікроорганізмами, розвиток яких порушує нормальний перебіг процесів бродіння та дозрівання тіста.

Мікрофлора борошна походить від мікрофлори зерна. В процесі розмелювання зерна мікроорганізми, що знаходяться на його поверхні в значній мірі переходять в борошно.

Кількісний та якісний склад мікрофлори борошна залежить від ступеню забруднення зерна, а також від способу його розмелювання та очищення. У високосортному борошні мікроорганізмів менше ніж муці низькосортному з великою кількістю висівків

Загальна кількість мікроорганізмів в 1 гр борошна досягає 2-3 млн, але ця цифра досить широко може змінюватися в залежності від вологості, терміну зберігання тощо. За зберігання борошна особливи за високої вологості, відбувається розмноження мікроорганізмів так як створено благо приємні умови для розвитку мікроорганізмів (волога, доступні поживні речовини, втрата опору та захисту зернівки, як живого організму до дії МО). Це може викликати псування борошна, появу його недоліків. Загальна кількість мікроорганізмів в борошні не являється показником його якості. Якість борошна характеризується вмістом в ній бактерій *Ervinia herbicola* (трав'яна паличка). Це факультативно анаеробні бактерії, що не утворюють спори. В якісному борошні не повинно бути кокових форм бактерій, їх вміст свідчить про підвищений вміст вологи.

Для оцінювання якості борошна велике значення має наявність в ній спор утворюючих бактерій. Найбільшу небезпеку несе сінна паличка (*Bacilia subtilis*), яка викликає тягучу хворобу хліба. Вегетативні клітини її гинуть при випіканні хліба а спор залишаються. Ці бактерії входять до специфічних мікроорганізмів борошна., тому останню перевіряють на наявність спор цих бактерій..

Зустрічаються молочнокислі та оцтовоеислі бактерії дріжджі, спори міцеліальних грибів, серед яких найбільше пеніциліні, аспергилів, рідше мукові гриби.

В сухому борошні бактерії знаходяться сплячому стані (вологість не вище 14%), при зволоженні борошна в результаті неправильного зберігання, активність їх підвищується і борошно псується. Найчастіше спостерігають прокисання, прогорання, та пліснявіння борошна.

Прокисання відбувається завдяки розвитку молочнокислих бактерій з виділенням молочної кислоти. Прогіркання – частково біохімічний процес окислення жирів борошна киснем повітря за участі ліполітичних ферментів борошна, частково результат ферментативного гідролізу жирів під дією ліполітичних ферментів деяких ферментів та міцеліальних грибів.

Пліснявіння спостерігається при зберіганні борошна на складах з відносною вологістю повітря більше 80%. Це найбільш поширений вид псування борошна. В ньому розвиваються в основному аспергили та пеніцили, деякі з них виробляють токсини. Використання такого борошна може привести до отруєння.

В процесі зберігання борошна з високим вмістом вологи (вище 20%) може спостерігатися її самозігрівання та розмноження спор утворюючих форм бактерій, що викликає тягуче псування пшеничного хліба.

Дріжджі роду *Candida* (дикі) знижують мальтозну активність пресованих дріжджів. Самі вони в процесі бродіння тіста не приймають участь, а лише

збіднюють поживне середовище. Лейконосток викликає утворення слизу в рідких заквасках з заваркою.

Солод – це пророщене зерно підсушене та подрібнене в основному ячменю та жита. При зберіганні солоду в неблагоприємних умовах на ньому розвиваються міцелі альні гриби – пеніцили та аспергили, спори яких постійно є на зерні.

Яйця в хлібопекарській промисловості використовують для покращення якості тіста та для змащування поверхні виробів при випіканні. В тісто додають тільки курячі яйця, а для змащування поверхні можуть використовувати яйця водо плаваючої птиці, так як вони можуть бути заражені сальмонелами, що викликають харчові токсикоінфекції.

Сіль, цукор та жири обов'язково перевіряють на відповідність Держстандартів та ТУ, в тому числі й по мікробіологічним показникам.

10.3. Хвороби хліба та способи їх попередження

Під впливом мікроорганізмів в хлібобулочних výroбах можуть виникати різні небажані зміни – хвороби, недоліки, дефекти. Розглянемо хвороби хліба пов'язані з зараженням та розвитком певних мікроорганізмів.



Тягуча хвороба хліба. (картопляна хвороба) Поверхня хлібобулочних виробів після випікання практично стерильна, але м'якушка при випіканні прогрівається лише до 95-98°C тому частина бактеріальних спор в ньому зберігається, в тому числі термостійкі спори сінної палички (*B. Subtilis*). за тривалого охолодження, транспортування, зберігання та реалізації хліба ці спори можуть прорости, а розмноження утворившихся вегетативних клітин сінної палички приводить до виникнення тягучої хвороби хліба. Сінна паличка виробляє ферменти амілазу та протеазу. Амілаза викликає гідроліз крохмалю з утворенням великої кількості декстринів, в результаті чого м'якушка хліба втрачає еластичність, оклейстеризується, стає в'язким та тягучим. Протеаза викликає гідроліз білків хліба, продукти гідролізу надають виробам різкий, неприємний запах. Оптимальна температура для розвитку сінної палички 34-40°C, тому

захворювання найчастіше проявляється в літні місяці, а також при зберіганні хліба в теплому приміщенні.

Сінна паличка чутлива до підвищеної кислотності середовища, тому тягуча вороба найчастіше вражає пшеничний хліб, що має в порівнянні із житнім невисоку кислотність. За значення рН 4,5-4,8 ці бактерії не розмножуються. Про початок захворювання свідчить слабо фруктовий запах. Хліб з ознаками тягучої хвороби зпалюють або закопують.



Дієвими заходами для попередження тягучої хвороби хліба є: швидке охолодження хліба після випічки до температури 10-12°C та зберігання його за такої температури в приміщенні що добре вентильовується; підкислення тіста оцтовою, пропіоновою, сорбіновою кислотами або їх солями; використання в заквасках для тіста з пшеничного борошна чистих культур пропіоновокислих бактерій або мезофільних молочнокислих бактерій. Часто кислотність хліба підвищують додаючи рідкі дріжджі. Пригнічення розвитку сінної палички за допомогою молочнокислих та пропіоновокислих бактерій пов'язано не тільки з підкисленням середовища, але й з виділенням вищезазначеними бактеріями антибіотичних речовин.

Для запобігання захворюванню хліба на „картопляну хворобу" використовують оцтовокислий кальцій, кількість якого при опарному способі приготування тіста може бути скорочена майже на 40 % порівняно з безопарним способом. Оцтовокислий кальцій не впливає на кислотність, вологість хліба, а також на смак і запах. Внесення в тісто невеликої кількості цього препарату приводить до збільшення об'єму хліба, підвищення пористості і поліпшення структурно-механічних властивостей м'якушки.

Для інгібування „картопляної хвороби" передбачається вносити на стадії замішування в тісто „Лізин гідрохлорид" у кількості 0,25-0,5% від маси борошна (патент 2264714 Росія, 2005).

Приміщення, яке призначене для реалізації і зберігання хліба, повинні бути сухими, добре вентильованими. Полиці, лотки, стелажі, контейнери для зберігання після звільнення продукції необхідно ретельно звільняти від крихт, а потім насухо протирати. У випадку виявлення ознак захворювання „картопляну хворобу" виробу повинні бути вилучені з реалізації. Полиці, шафи, лотки, контейнери, в яких

зберігалися ці вироби, слід ретельно промити мийними засобами, ^{ПІСЛЯ} гарячою водою з наступною дезінфекцією.

Приготування тіста опарним способом затримує мікробіологічне псування хліба на 3 доби, а хліба із зміненими технологічними параметрами - на 4-5 діб.

У хліба, виготовленого за інтенсивною технологією і безопарним способом, ознаки "картопляної хвороби" визначались після 36 год, опарним способом - через 60 год.

Основними джерелами забруднення виробів картопляною паличкою вважається борошно, інколи додаткова сировина і напівфабрикати. Крім того, спори бактерій можуть залишатись на поверхнях обладнання, тари та приладдя, завдяки контакту із зараженою сировиною, напівфабрикатами або готовою продукцією.

Для інгібування спорових бактерій і запобігання „картопляній хворобі” хлібобулочних виробів, тобто підвищення мікробіологічної безпеки продукції, пропонується використовувати підкислювальні напівфабрикати (концентрована молочнокисла закваска, мезофільна закваска, рідкі дріжджі, пропіонова кислота, вітамінна, комплексна та інші види пшеничних заквасок). Завдяки цьому досягається також поліпшення органолептичних і структурно-механічних показників якості готових виробів.

Дробот В.І. і Савчук Н.І. (2002) встановили, що ацетат кальцію проявляє високу активність щодо *Bacillus subtilis*, які зумовлюють „картопляну хворобу” хліба. З метою запобігання погіршення фізико-хімічних показників хліба рекомендують вводити його в тісто в комплексі з ферментним препаратом Фунгаміл Супер М.А.

Розроблено і вже використовуються такі види пшеничних заквасок, як пропіонова, вітамінна, комплексна, ацидофільна, що відзначаються складним мікробіологічним складом, з використанням вискоєфективних штамів мікроорганізмів, які при вирощуванні продукують у борошняному середовищі вітаміни, антибіотики, органічні кислоти та інші сполуки.

Додавання в тісто цих заквасок дозволяє знизити ризик захворювання хліба на "картопляну хворобу". Крім того, пропіонові і вітамінні закваски знижують інтенсивність пліснявіння та підвищують мікробіологічну безпеку хліба.

Замість тіста на охолодженому дріжджовому напівфабрикаті затримує захворювання хліба на "картопляну хворобу" на 7-9 діб. Автори пояснюють це зниженням життєдіяльності спорових бактерій, що спричинюють "картопляну хворобу", в умовах зниженої температури напівфабрикату, а також інгібувальним впливом антибіотиків (бактеріоцинів), що синтезуються дріжджами у борошняному середовищі зі зниженою температурою.

Вище якість хліба з борошна пшеничного вищого ґатунку отримано приготуванням тіста опарним і способом на охолодженому дріжджовому напівфабрикаті, внаслідок чого комплексний показник збільшення питомого об'єму становив відповідно 13 і 20 %, стискуваність м'якушки -

20 і 35 %, пористість - 2 і 4 %. Хліб, приготовлений за розробленими технологіями, не ушкоджувався "картопляною хворобою" і не пліснявів протягом 15 дібз використанням охолодженого дріжджового напівфабрикату з комплексним поліпшувачем та 10 діб - за опарним способом замісу тіста і додаванням комплексного поліпшувача.

Крейдяна хвороба хліба.

Крейдяна хвороба зумовлена діями особливих дріжджоподібних грибів, які потрапляють у хліб з борошном. В наслідок їх розвитку на скоринці і в м'якушці хліба утворюються білі сухі плями, які нагадують крейду. Ця хвороба трапляється дуже рідко. Вона безпечна для здоров'я людини, але пошкоджений нею хліб непридатний для споживання.

Крейдяна хвороба



MyShared

Пігментні плями. Хвороба, зумовлена розвитком пігментоутворюючих бактерій та дріжджів. Це виражається в появі на м'якушці жовтих рожевих, яскраво-червоних та інших п'ятен. Частіше за все на поверхні хліба з'являються червоні п'ятна, що нагадують краплі крові. Це колонії бактерій *Serratia marcescens* («чудесна паличка») - це безспорова бактерія, яка утворює пігмент червоного кольору. Для розвитку цих бактерій необхідна висока вологість повітря, температура близько 25°C. Вона забарвлює м'якушку в червоний колір, оцукрює крохмаль і розкладає білки хліба. Ця бактерія не утворює шкідливих для людини речовин, але ушкоджений нею хліб втрачає товарний вигляд і непридатний до споживання. Для боротьби з чудесною паличкою достатньо вимити приміщення гарячою водою, а обладнання - кип'ятком. Ці мікроорганізми нестійкі до температури вище 40 °C. Для попередження цього недоліку хліб треба зберігати в приміщенні, яке

добре вентильється за температури не вище 10-12°C, з відносною вологістю близько 70%.



«П'яний хліб». Зовнішніх ознак псування такий хліб не має, але вживання його викликає отруєння з симптомами що нагадують сп'яніння. Отруєння виникає у зв'язку з тим, що в хлібові міститься токсин, який продукує пліснявим грибом фузаріум (*Fusarium*), який може міститися в борошні, що виготовлено з зараженого зерна що зимувало в полі за високої вологості. Такий хліб непридатний до вживання.

Для попередження такого недоліку необхідна ретельна перевірка зерна на пунктах прийому та елеваторах. Зерно, що перезимувало в полі та морозобійне зерно, не повинно перероблятися в борошно, так як враження зерна грибом та накопичення токсину відбувається саме за цих умов. Токсин термостійкий та зберігається в готових виробах.



Пліснявіння хліба зумовлене розвитком переважно пліснявих грибів роду *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. ochraceus*). Запліснявілий хліб може містити шкідливі для організму людини речовини. Відомо близько 80 видів пліснявих грибів, які утворюють мікотоксини. З них близько 20 видів *Aspergillus* і 5 видів *Penicillium*. В числі токсинів, що продукуються міцеліальними грибами, виділяють 6 типів афлатоксинів (B1, B2, M1, M2, G1, G2), патулін, охратоксини і рубратоксини. У хлібі, зараженому *A. flavus*, виявлені афлатоксини B1 і G1, які концентрувались не тільки на зовнішніх шарах хліба, а й проникали у м'якушку.



Пліснявіння виникає в процесі тривалого зберігання хліба. Воно відбувається внаслідок потрапляння спор цвілі з навколишнього середовища на випечений хліб. Оптимальними умовами для розвитку плісені є температура 25-35°C і відносна вологість повітря 70-80 %. Ферменти цвілі розкладають м'якушку хліба, погіршують його смак і запах, а деякі види утворюють токсичні речовини. Особливо небезпечне пліснявіння для хліба з тривалим періодом зберігання. Щоб запобігти пліснявінню, поверхню такого виробу обробляють етиловим спиртом або сорбіновою кислотою, а потім упаковують у полімерну тару.

У ДНДІХП (Росія) встановлено взаємозв'язок міжнізкими хлібопекарськими властивостями борошна і ступенем обсіменіння його спорами бактерій. Оскільки джерелом зараження борошна спорами бактерій є зерно, а низькі хлібопекарські властивості його залежать від якості зерна.

У цілому пліснявіння хліба прямо залежить від ступеня спорового обсіменіння борошна - із збільшенням цього показника мікробіологічна стійкість готових хлібобулочних виробів під час зберігання знижується. Зроблені висновки, що зонами ризику пліснявіння хліба є заключні стадії остигання і пакування.

Із слабокислих консервантів (сорбіт калію, пропіонат кальцію і бензоат натрію) найбільш ефективно пригнічує розвиток пліснявих грибів у хлібобулочних výroбах сорбіт калію з максимальною концентрацією 0,3 %.

Мікробіологічна безпека хлібобулочних виробів залежить від виду і кількості мікроорганізмів, а також їх здатності розвиватись у výroбах. Температура випікання досить висока (250-300 °C на поверхні і 90-95 °C в середині виробів), тому на виході з печі у м'якушці хліба у життєздатному стані залишаються тільки спори бактерій, які

потрапляють із сировиною, а поверхня хліба практично стерильна. Спорі пліснявих грибів потрапляють на поверхню виробів тільки в процесі контакту з навколишнім середовищем виробничого приміщення. Lecture

Основним принципом підвищення мікробіологічної безпечності хліба є адаптація класичних і створення нових технологій, які дозволяють отримати хлібобулочні вироби підвищеної мікробіологічної чистоти. З всього різноманіття технологій, розроблених останніми роками, для розв'язання проблем мікробіологічної безпеки ефективними вважають створені для цієї мети технології хлібобулочних виробів на заквасках і спрямованим культивуванням мікроорганізмів (Полякова С.П., 2003). Створено технології, використання фізичних інгібіторів пліснявіння хліба, які включають різні способи впливу на поверхню виробу з метою його стерилізації. Найбільш ефективним вважається комбіноване оброблення поверхні хліба - поєднання теплового, озонування з наступним пакуванням і опроміненням УФ-променями.

Актуальним у боротьбі зі спорами бактерій є використання на хлібопекарних підприємствах ультрафіолетового опромінення, яке пригнічує життєдіяльність мікроорганізмів, діючи на структуру ДНК. З усіх мікроорганізмів найбільш чутливі до цього опромінення бактерії, особливо спори і вегетативні клітини. (Полякова С.П., Богатирьова Т.Г., 2003). Досвід промислового використання опромінювання показав, що воно надійно пригнічує розвиток дріжджів, плісняви та бактерій у повітрі виробничих приміщень, на поверхні обладнання, тари, упаковки готових виробів. Найвищу бактерицидну дію проявляють випромінювання з довжиною хвилі 230-310 нм.

З метою зниження мікробіологічного забруднення поверхні хліба передбачено оброблення охолодженого хліба озоном у концентрації 90-110 мгм/м³ протягом 10-12 хв (патент 2241338, Росія). Оброблені вироби герметично упаковують у поліпропіленові пакети і опромінюють УФ-променями з довжиною хвиль 180-210 нм дозою 120 -135 Вт*1 год/м² на відстані до зразків 20 см протягом 10-12 хв. Цей спосіб оброблення хліба збільшує мікробіологічну стійкість під час зберігання від 4 до 7 діб.

10.4. Мікробіологічний контроль хлібопекарського виробництва

Мікробіологічному контролю підлягає сировина, напівфабрикати (рідкі дріжджі, закваски, тісто) та готова продукція.

Контроль сировини Борошно – його досліджують в першу чергу органоліптично. Якщо в партії борошно має сторонній запах цвілі, кислий чи прогірклий смак, то проводять посів борошна для визначення загальної кількості мікроорганізмів.

Проби висівають на різне середовище в залежності від групи мікроорганізмів, яку необхідно виділити. Наприклад, для виявлення міцеліальних грибів використовують сушло –агар; для виявлення бактерій - м'ясо-пептонний агар. Позів здійснюють в різних розведеннях борошна (від 1:100 до 1:100000) в стерильній воді. Борошно, з великою мірою забруднення мікроорганізмами, а

також з ознаками прогорання, прокисання, пліснявіння, непридатна до використання в хлібопекарському виробництві.

Крім того, в борошні обов'язково враховують специфічну мікрофлору – кількість спор, особливо сінної палички, що викликає тягучість хліба. Для цього ретельно розмішують суміш води з борошном (10г борошна 90 мл води) нагрівають на протязі 10 хвилин за температури 95-97°C (температура м'якушки при випіканні), за якої венгетативні клітини сінної палички гинуть, а спори залишаються неушкодженими. Потім певну кількість матеріалу вносять в м'ясо-пептоновий агар в чашки Петрі (рН середовища 7-7,2)

Після проростання підраховують кількість колоній; передбачають, що кожна колонія проростає з однієї спори. При вмісті до 200 спор в 1 грамі борошна вона вважається нормальною, при вмісті від 200 до 1000 спор – сумнівною (борошно підвищеної забрудненості); при вмісті 1000 спор та більше - дуже забрудненою та непридатною до використання.

Є й інший спосіб виявлення споро утворюючої мікрофлори в пшеничному борошні – метод пробних лабораторних випічок, які у відповідності до розпорядження з попередження тягучої хвороби проводяться в період з 1 травня 1 жовтня. Один зразок виробів обгортують у вологий папір та витримують за температури 37°C. Через 24 години хліб ріжуть гострим ножом та органоіптично перевіряють наявність ознак захворювання – специфічний запах, липка консистенція м'якушки. Якщо ці ознаки відсутні то борошно вважається нормальним: якщо з'являються ознаки ослизневіння та специфічний запах то борошно непридатне до використання. Таким же способом перевіряють якість ферментних препаратів.

Контроль напівфабрикатів. В напівфабрикатах визначають загальну кількість дріжджів та молочнокислих бактерій в 1 грамі та їх співвідношення, видовий склад бродильної мікрофлори та активність видів, групи сторонніх мікроорганізмів, небажаних та шкідливих для виробництва.

Рідкі дріжджі – для визначення загальної кількості дріжджів та молочнокислих бактерій 1 гр рідких дріжджів розчиняють десятикратної кількістю води, енергійно збовтують та після відстоювання суміші з верхнього шару води готують препарат. При мікроскопію ванні визначають кількість клітин дріжджів які брунькуються, їх морфологічний стан, наявність сторонньої мікрофлори. Кількість клітин дріжджів підраховують в камері Горяєва. Кількість живих клітин дріжджів в 1 грамі рідких дріжджів коливається від 90 до 120 млн, співвідношення дріжджів та молочнокислих бактерій приблизно рівне 1:1.

В рідких дріжджах не допускається присутності рухливих спор утворюючих бактерій. Їх виявляють методом накопичення: пробу дріжджів вносять в пробірку з стерильним солодовим суслом, прогрівують на водяній бані 30 хвилин за температури 70-75°C та витримують в термостаті за температури 37°C 24 години. При цьому, якщо при мікроскопію ванні виявляють рухливі споро утворюючі

палички, дріжджі замінюють новою розводкою, так як є небезпека внести разом з ними збудників тягучої хвороби хліба.

Крім прямих методів визначення кількісного та видового складу мікрофлори напівфабрикатів, є опосередковані методи обліку видового складу бродильної мікрофлори за їх ферментативною активністю. Визначають піднімальну силу шляхом кульки що спливає та бродильну активність дріжджів за кількістю утвореного діоксиду вуглецю (дивись ТХК)

Тісто. Контроль процесу приготування тіста полягає в тому що в період дозрівання тіста необхідно одночасно з газоутворюючою здатністю дріжджів, ступенем їх розмноження та активністю молочнокислих бактерій. Газоутворюючу здатність дріжджів в тісті, мальтозну активність та осмочутливість дріжджів визначають в мікрогазометричному приборі. Ступінь розмноження дріжджів визначають в камері Горяєва.

Активність молочнокислих бактерій визначають опосередкованим шляхом за допомогою індикаторів (януса зеленого або метиленового синього), який додають до суміші тіста з водою за температури 40°C. Відновленні форми індикатора під дією ферментів молочнокислих бактерій змінюють забарвлення. Активність молочнокислих бактерій визначають за часом, необхідним для знебарвлення фарби : низька активність відповідає 90-100 хв, висока 35-50 хв, дуже висока 7-25 хв.

Визначення видового складу мікрофлори напівфабрикатів з метою виявлення мікроорганізмів-шкідників виробництва, що розвиваються разом з корисною мікрофлорою (дріжджами та молочнокислими бактеріями), здійснюють шляхом висіву різних розведених проб на елективні середовища. Регулярні мікробіологічні дослідження дозволять на протязі всього технологічного процесу виявити джерела підвищеної мікробної забрудненості та своєчасно придушити їх.

Контроль готової продукції. Готові вироби перевіряють на наявність кишкової палички на їх поверхні. Для цього використовують метод змиву з певної площини та висівання його на елективне середовище Ендо. Наявність бактерій групи кишкової палички недопустимо.

Крім того визначають наявність спороутворюючих бактерій в хлібіві. З м'якушки пшеничного хліба, змішаної з водою (стерильною), готують розведення (від 1:10, 1:1000, які висівають на мясопептонний бульйон) Посіви вирощують в термостаті, а потім одержаною суспензією змащують стерильні шматки білої булки, які також витримують в термостаті у вологій камері.

За наявності сінної палички спостерігається ослизнення та потемніння шматків, з'являється специфічний запах. Оцінка ступеню зараження хліба визначається за розведенням, в якому виявлено сінну паличку. За розведення 1:10 ступінь зараження вважають слабою, при розведенні 1:100- середньою, 1:1000 – сильною.

Питання для самоконтролю.

1. Які мікроорганізми приймають участь у виробництві пшеничного та житнього хліба?
2. Які джерела та шляхи проникнення шкідливих для виробництва мікроорганізмів?
3. Які шкідливі для організму людини мікроорганізми можуть перебувати на поверхні зерна та в борошні?
4. Які хвороби хліба викликають мікроорганізми?
5. Які заходи вживають для боротьби з хворобами хліба, що викликають мікроорганізми?
6. Які заходи мікробіологічного контролю вживають на виробництві?

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Атабеков И.Г. Практикум по общей вирусологии. — М.: Из-во Московского университета, 1981. — 191 с.
2. Білявський Г.О., Падун М.М., Фурдуй Р.С. Основи загальної екології. — К: Либідь, 1993. — 303 с.
3. Бойко А.Л. Экология вирусов растений. — К.: Вища шк., 1990. — 165 с.
4. Бондаренко Н. В. Биологическая защита растений. — М.: Агропромиздат, 1987.-278 с.
5. Борьба с вирусными болезнями растений. / Под ред. Х.Кеглер. М.: Агропромиздат. — 1986. — 326 с.
6. Будзанівська І.Г., Поліщук В.П., Тивончук Т.П., Бойко А.Л. Зв'язок між наявністю антигенів фітовірусів в ґрунті, структурою ґрунтів та екологічним станом зовнішнього середовища // Вісник аграрної науки. — 1998. — №9. — С 61-63.
7. Вавилов Н.И. Иммуитет растений к инфекционным заболеваниям. - М: Наука, 1986. — 520 с.
8. Векірчик К.М. Мікробіологія з основами вірусології: - К.:Либідь, 2001.- 312с.
9. Векірчик К.М. Практикум з мікробіології: Навч. посібник. – К.: Либідь, 2001. – 144 с.
10. Вершигора А.Ю., Бранцевич Л.Г., Василевская И.А. и др. Общая микробиология. — К.: Вища шк. Головное изд-во, 1988. — 342 с.
11. Вирощування екологічно чистої продукції рослинництва. /Под ред. Дегодюка Е.Г. — К.:Урожай, 1992. — 318 с.
12. Віруси і вірусні хвороби бобових культур на Україні. / Московець С.М., Краев В.Г., Порембська Н.Б. та ін. — К.: Наукова думка 1971.— 136 с.
13. Вірусні та мікоплазмові хвороби польових культур. / Під ред. Ж.П.Шевченко. — К.: Урожай, 1995. — 304 с
14. Вірусні хвороби сільськогосподарських культур/ Московець С.Н., Бобирь А.Д., Глушак Л.Е. / Під ред. Бобиря А.Д. — К.: Урожай, 1975. — С.72-80.
15. Власов Ю.И. Вирусные и микоплазменные болезни растений. — М.: Колос, 1992. — 207 с.
16. Власов Ю.И., Ларина Э.И. Сельскохозяйственная вирусология. — М.: Колос, 1982. — С.150-156.
17. В.Г.Герасименко, М.О.Герасименко, М.І.Цвіліховський та ін. Біотехнологія. Підручник; Під общ. ред. В.Г.Герасименко.-К.:Фірма «ІНКОС», 2006.-647с.

18. Генкель Л. А. Микробиология с основами вирусологии. — М.: Просвещение, 1974. — 270 с.
19. Гиббс А., Харрисон Б. Основы вирусологии растений: Пер. с англ. — М.: Мир, 1978. — 430 с.
20. Гнутова Р.В. Серология и иммунохимия вирусов растений. — М.: Наука, 1993. — 300 с.
21. Груздева Л.П., Яекин А.А. Почвоведение с основами геоботаники. — М.: Агропромиздат, 1991. — 448 с.
22. Гусев М. В., Минова Л. А. Микробиология. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1992. - 448 с.
23. Ижевский С. С, Гулий В. В. Словарь по биологической защите растений. — М.: Россельхозиздат, 1986.— 223 с.
24. Максимов Н.А. Краткий курс физиологии растений, 1958
25. Мишустин Е.Н., Емцев В.Т. Микробиология. – М.: Агропромиздат, 1987. – 368 с.

<https://uk.wikipedia.org>

studfiles.net

Metodichka_virusologiya.pdf

