

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА  
И ПРОДОВОЛЬСТВИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

ГЛАВНОЕ УПРАВЛЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ, НАУКИ И КАДРОВ

Учреждение образования  
«БЕЛОРУССКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ  
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ»

Т. В. Соляник, М. А. Гласкович, А. А. Гласкович

# МИКРОБИОЛОГИЯ

**В пяти частях**

**Часть 1**

## ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

*Рекомендовано учебно-методическим объединением  
по образованию в области сельского хозяйства  
в качестве курса лекций для студентов  
учреждений высшего образования, обучающихся  
по специальности 1-74 03 01 Зоотехния*

Горки  
БГСХА  
2014

УДК 579.2(075.8)  
ББК 28.4Я73  
С60

*Одобрено методической комиссией  
зооинженерного факультета 25.03.2014 (протокол № 7)  
и Научно-методическим советом БГСХА 03.12.2014 (протокол № 3)*

**Авторы:**

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент *Т. В. Соляник*;  
кандидат сельскохозяйственных наук, доцент *М. А. Гласкович*;  
кандидат ветеринарных наук, доцент *А. А. Гласкович*

**Рецензенты:**

доктор ветеринарных наук, доцент *Н. В. Насонов*  
(РУП «Институт экспериментальной ветеринарии  
им. С. Н. Вышелесского»);  
кандидат ветеринарных наук, доцент *П. П. Красочко* (УО «ВГАВМ»);  
кандидат сельскохозяйственных наук, доцент *Н. М. Былицкий*  
(УО «БГСХА»)

**Соляник, Т. В.**

С60 Микробиология : курс лекций. В 5 ч. Ч. 1. Общая микробиология / Т. В. Соляник, М. А. Гласкович, А. А. Гласкович. – Горки : БГСХА, 2014. – 82 с. : ил.  
ISBN 978-985-467-529-9.

В соответствии с программой дисциплины курс лекций составлен для студентов высших учебных заведений. Описана систематика и морфология микроорганизмов, наследственность и распространение микроорганизмов в природе, даны основы учения об инфекции. Подробно описано практическое применение микроорганизмов.

Для студентов учреждений высшего образования, обучающихся по специальности 1-74 03 01 Зоотехния.

УДК 579.2(075.8)  
ББК 28.4Я73

**ISBN 978-985-467-529-9 (ч. 1)**  
**ISBN 978-985-467-528-2**

© УО «Белорусская государственная  
сельскохозяйственная академия», 2014

## ВВЕДЕНИЕ

**Микробиология** (от греч. *micros* – малый, *bios* – жизнь, *logos* – учение) – наука, изучающая строение, жизнедеятельность и экологию микроорганизмов, мельчайших форм жизни растительного или животного происхождения, не видимых невооруженным глазом.

**Микробиология изучает** всех представителей микромира (бактерии, грибы, простейшие, вирусы). По своей сути микробиология является биологической фундаментальной наукой. Для изучения микроорганизмов она использует методы других наук, прежде всего физики, биологии, биоорганической химии, молекулярной биологии, генетики, цитологии, иммунологии. Как и всякая наука, микробиология подразделяется на общую и частную. Общая микробиология изучает закономерности строения и жизнедеятельности микроорганизмов на всех уровнях: молекулярном, клеточном, популяционном; генетику и взаимоотношения их с окружающей средой. Предметом изучения частной микробиологии являются отдельные представители микромира в зависимости от проявления и влияния их на окружающую среду, живую природу, в том числе человека. К частным разделам микробиологии относятся: медицинская, ветеринарная, сельскохозяйственная, техническая (раздел биотехнологии), морская, космическая микробиология.

Микроорганизмы обитают во всех климатических зонах, находятся на всех предметах и продуктах, живут в организме человека. Они разлагают остатки отмерших животных и растительных тканей, выполняя роль санитаров планеты. С жизнедеятельностью микроорганизмов связаны образование полезных ископаемых, плодородие почвы, самоочищение водоемов и т. д. Полезные свойства микроорганизмов используются в технологии производства многих пищевых продуктов и различных биологически активных веществ, таких как ферменты, аминокислоты, витамины, антибиотики и др.

Однако не все микроорганизмы приносят пользу. Многие микроорганизмы являются вредителями пищевых производств и вызывают порчу пищевых продуктов и сельскохозяйственного сырья. Некоторые микроорганизмы, развиваясь и размножаясь в пищевых продуктах, образуют токсины и вызывают пищевые отравления.

Среди микроорганизмов имеется особая группа – патогенные (болезнетворные) микробы, которые, попадая в организм человека через

пищевые продукты, способны вызвать пищевые инфекционные заболевания (алиментарные инфекции).

Особую группу ультрамикроскопических структур, не имеющих клеточного строения и отличающихся по химическому составу от всех микроорганизмов, представляют вирусы и бактериофаги. Положение вирусов и фагов в системе живых организмов до сих пор остается неясным. Вирусы являются внутриклеточными паразитами клеток и вызывают разнообразные болезни человека, животных и растений. Бактериофаги паразитируют в клетках бактерий и вызывают их лизис, нанося огромный вред при производстве пищевых продуктов и биологически ценных веществ, основанных на жизнедеятельности полезной микрофлоры (например, при производстве кисломолочных продуктов, антибиотиков, бактериальных ферментов и т. д.).

**Общими свойствами** микроорганизмов являются:

- *малые размеры* (размеры микроорганизмов измеряются в микрометрах,  $1 \text{ мкм} = 10^{-6} \text{ м}$ );

- *высокая скорость обменных процессов*. Это связано с большим отношением поверхности обмена к объему клетки. Для микроорганизмов вся поверхность клетки является поверхностью обмена. Так как клетки бактерий самые мелкие, то они растут и развиваются быстрее всех микроорганизмов, за ними следуют дрожжи и грибы. В свою очередь, скорость обменных процессов у микроорганизмов в десятки и сотни тысяч раз выше, чем у животных. Например, в организме одного быка массой в 500 кг за 24 часа образуется примерно 0,5 кг белка; за это же время 500 кг дрожжей могут синтезировать более 50 000 кг белка;

- *широкое распространение в природе*. Малые размеры микроорганизмов имеют значение для экологии. Микроорганизмы могут распространяться с воздушными потоками и существуют повсюду;

- *пластичность обмена* – высокая способность к адаптации (приспособлению к новым условиям существования). Несравненно большая гибкость обменных процессов у микроорганизмов по сравнению с растениями и животными объясняется их способностью синтезировать индуцибельные ферменты, т. е. ферменты, которые образуются в клетке только при наличии в среде соответствующих веществ;

- *высокая степень изменчивости*. Более высокая степень изменчивости микроорганизмов по сравнению с макроорганизмами связана с тем, что большинство микроорганизмов является одноклеточными организмами. На отдельную клетку воздействовать легче, чем на орга-

низм, состоящий из множества клеток. Высокая степень изменчивости, быстрый рост и развитие, высокая скорость обменных процессов, образование многочисленного потомства – все эти свойства микроорганизмов делают их чрезвычайно удобными объектами для генетического анализа, так как опыты можно проводить в короткие сроки на огромном числе особей.

### **Задачи микробиологии пищевых производств.**

1. Знание свойств микроорганизмов позволяет своевременно принимать меры, направленные на *предотвращение роста и развития микроорганизмов* при производстве, транспортировании пищевых продуктов. Это создает предпосылки для повышения биологической стойкости пищевой продукции в процессе ее хранения.

2. Выделение чистых культур из различных объектов окружающей среды, их селекция, получение высокопродуктивных мутагенных штаммов, оптимизация основных параметров культивирования микроорганизмов позволяют *интенсифицировать технологические процессы*, основанные на жизнедеятельности полезной микрофлоры. В свою очередь, повышение активности технически полезных микроорганизмов способствует подавлению вредной микрофлоры и улучшению качества пищевых продуктов.

3. Одной из основных задач микробиологии пищевых производств является обеспечение *выпуска продуктов питания, безопасных для здоровья потребителей*. Для этого необходимо знать микробиологические критерии безопасности различных групп пищевых продуктов и уметь проводить микробиологический контроль в соответствии с санитарно-эпидемиологическими правилами и нормативами.

4. Благодаря изучению свойств микроорганизмов стало возможным *создание технологических процессов*, которые либо совсем не дают отходов (*безотходные технологии*), либо в основе которых лежат замкнутые циклы, когда все отходы полностью перерабатываются или используются на последующих стадиях производства. Таким образом, с помощью микробиологии успешно решаются вопросы, связанные с охраной окружающей среды.

**Медицинская микробиология** изучает патогенные для человека микроорганизмы: бактерии, вирусы, грибы, простейшие. В зависимости от природы изучаемых патогенных микроорганизмов медицинская микробиология делится на бактериологию, вирусологию, микологию, протозоологию.

Каждая из этих дисциплин рассматривает следующие вопросы:

- морфологию и физиологию, т. е. осуществляет микроскопические и другие виды исследований, изучает обмен веществ, питание, дыхание, условия роста и размножения, генетические особенности патогенных микроорганизмов;

- роль микроорганизмов в этиологии и патогенезе инфекционных болезней;

- основные клинические проявления и распространенность вызываемых заболеваний;

- специфическую диагностику, профилактику и лечение инфекционных болезней;

- экологию патогенных микроорганизмов.

К медицинской микробиологии относят также санитарную, клиническую и фармацевтическую микробиологию.

**Санитарная микробиология** изучает микрофлору окружающей среды, взаимоотношение микрофлоры с организмом, влияние микрофлоры и продуктов ее жизнедеятельности на состояние здоровья человека, разрабатывает мероприятия, предупреждающие неблагоприятное воздействие микроорганизмов на человека. В центре внимания клинической микробиологии – роль условно-патогенных микроорганизмов в возникновении заболеваний человека, диагностика и профилактика этих болезней.

**Фармацевтическая микробиология** исследует инфекционные болезни лекарственных растений, порчу лекарственных растений и сырья под действием микроорганизмов, обсемененность лекарственных средств в процессе приготовления, а также готовых лекарственных форм, методы асептики и антисептики, дезинфекции при производстве лекарственных препаратов, технологию получения микробиологических и иммунологических диагностических, профилактических и лечебных препаратов.

**Ветеринарная микробиология** изучает те же вопросы, что и медицинская микробиология, но применительно к микроорганизмам, вызывающим болезни животных.

Микрофлора почвы, растительного мира, влияние ее на плодородие, состав почвы, инфекционные заболевания растений и т. д. находятся в центре внимания **сельскохозяйственной микробиологии**.

**Морская и космическая микробиология** изучает соответственно микрофлору морей и водоемов и космического пространства и других планет.

**Техническая микробиология**, являющаяся частью биотехнологии, разрабатывает технологию получения из микроорганизмов разнообразных продуктов для народного хозяйства и медицины (антибиотики, вакцины, ферменты, белки, витамины). Основа современной биотехнологии – генетическая инженерия.

Многочисленные открытия в области микробиологии, изучение взаимоотношений между макро- и микроорганизмами во второй половине XIX в. способствовали началу бурного развития **иммунологии**. Вначале иммунология рассматривалась как наука о невосприимчивости организма к инфекционным болезням. В настоящее время она стала общемедицинской и общебиологической наукой. Доказано, что иммунная система служит для защиты организма не только от микробных агентов, но и от любых генетически чужеродных организму веществ с целью сохранения постоянства внутренней среды организма, т. е. гомеостаза.

**Иммунология** является основой для разработки лабораторных методов диагностики, профилактики и лечения инфекционных и многих неинфекционных болезней, а также разработки иммунобиологических препаратов (вакцин, иммуноглобулинов, иммуномодуляторов, аллергенов, диагностических препаратов). Разработкой и производством иммунобиологических препаратов занимается иммунобиотехнология – самостоятельный раздел иммунологии.

Современная медицинская микробиология и иммунология достигли больших успехов и играют огромную роль в диагностике, профилактике и лечении инфекционных и многих неинфекционных болезней, связанных с нарушением иммунной системы (онкологические, аутоиммунные болезни, трансплантация органов и тканей и др.).

Хотя данный курс лекций написан для студентов, для которых микробиология не является основным предметом их будущей специализации, тем не менее, они должны иметь представление о разнообразии мира микробов и о той роли, которую микроорганизмы играют в поддержании жизни на Земле. Специалисты таких отраслей, как биотехнология, сельское хозяйство, агрономия, ветеринария, пищевая и рыбная промышленность, почвоведение и др., имеют дело с микроорганизмами при приготовлении и консервировании кормов, компостировании сельскохозяйственных отходов, обработке почвы и ее мелиорации, получении органических удобрений, переработке плодов и овощей, производстве вина, пива и т. д.

## 1. МИКРОБИОЛОГИЯ КАК НАУКА. ИСТОРИЯ МИКРОБИОЛОГИИ

Роль микробиологии как науки определяется значением микроорганизмов в природных процессах и человеческой деятельности:

1) микроорганизмы участвуют в глобальном круговороте элементов, причем некоторые стадии невозможны без них, например фиксация молекулярного азота, денитрификация или минерализация сложных органических веществ в анаэробных условиях;

2) на метаболизме микроорганизмов основан ряд необходимых человеку производств (например, хлебопечение, пивоварение, виноделие и др.);

3) микроорганизмы используются для очистки окружающей среды от различных природных и антропогенных загрязнений;

4) многие микроорганизмы являются возбудителями заболеваний человека, животных, растений, а также вызывают порчу продуктов питания и различных промышленных материалов.

Исходя из выполняемых задач, микробиология подразделяется на общую, частную, медицинскую, ветеринарную, сельскохозяйственную, промышленную и т. д.

История микробиологии исчисляется примерно с 1661 г., когда голландский торговец сукном Антони ван Левенгук впервые описал микроскопические существа, наблюдаемые им в микроскоп собственного изготовления. Он описал их основные группы, а также сделал вывод о том, что они вездесущи. Этот период истории микробиологии можно условно назвать описательным.

Физиологический этап развития микробиологии начался приблизительно с середины XIX в. и связан прежде всего с именами французского химика-кристаллографа Луи Пастера и немецкого сельского врача Роберта Коха. Эти ученые положили начало экспериментальной микробиологии и существенно обогатили методологический арсенал этой науки.

Л. Пастер доказал, что причиной химических изменений субстратов являются микроорганизмы, и опроверг теорию их самозарождения. Исследования природы брожений стали продолжением работы по выяснению причины прокисания вина. Л. Пастер показал, что каждое брожение имеет главный конечный продукт и вызывается микроорганизмами определенного типа. Эти исследования привели к открытию неизвестного ранее «образа жизни» – анаэробного метабо-



лизма. Изучая на примере дрожжей возможность переключения с одного типа обмена веществ на другой, Л. Пастер показал, что анаэробный метаболизм энергетически менее выгоден. Работы по изучению возбудителей «болезней» пива и вина позволили Л. Пастеру предложить способ тепловой обработки этих продуктов, предохраняющий их от порчи, получивший название «пастеризация». Они же навели ученого на мысль о том, что микроорганизмы, возможно, являются возбудителями и инфекционных болезней человека.

Исследования микробной природы многих заболеваний человека в дальнейшем велись институтами Л. Пастера (в Париже) и Р. Коха (в Берлине) параллельно.

Р. Кох, начав с доказательства бактериальной этиологии сибирской язвы, затем выделил возбудителей многих болезней в чистой культуре (среди них *Mycobacterium tuberculosis*, или палочка Коха).

Ученый окончательно сформулировал триаду, получившую его имя, для доказательства микробной этиологии заболевания:

1) микроорганизм должен присутствовать в материале, выделенном от больного;

2) выделенный в чистой культуре микроорганизм должен вызывать ту же болезнь;

3) при экспериментально вызванном повторном заболевании возбудитель должен снова быть выделен в чистую культуру, и две эти чистые культуры должны быть идентичными.

В лаборатории Р. Коха в практику эксперимента были введены методы получения чистых культур, а также использование в микробиологических исследованиях твердых сред на основе сначала желатина, а затем и агара. Знаменитая чашка Петри и бактериальные фарфоровые фильтры Шамберлана также изобретены сотрудниками института Р. Коха.

Признание огромной роли микроорганизмов в биологически важных круговоротах элементов на Земле связано с именами Сергея Николаевича Виноградского и Мартинуса Бейеринка.

С. Н. Виноградскому принадлежит открытие уникального «образа жизни» – *хемолитоавтотрофии* и изучение серных и нитрифицирующих бактерий. С. Н. Виноградский и М. Бейеринк независимо друг от друга показали, что молекулярный азот способны фиксировать только микроорганизмы, и выделили свободноживущих и симбиотических азотфиксаторов. С. Н. Виноградским разработан также метод накопительных культур.

С. Н. Виноградский и М. Бейеринк являются основоположниками экологического направления микробиологии, связанного с изучением роли микроорганизмов в природных условиях и участием их в круговороте веществ в природе.

На рубеже XIX–XX вв. Дмитрий Иванович Ивановский открыл вирус табачной мозаики, тем самым обнаружив особую группу биологических объектов, не имеющих клеточного строения. Д. И. Ивановский положил начало вирусологии, выросшей в самостоятельную область науки. Открытие вирусов сыграло огромную роль в развитии ряда научных дисциплин: биологии, медицины, ветеринарии и фитопатологии. Оно позволило расшифровать этиологию таких заболеваний, как бешенство, оспа, энцефалиты, и многих других.

В XX в. микробиология развивалась, опираясь, в том числе, и на открытия, сделанные в других областях биологии.

Развитие отечественной микробиологии в XX в. представлено различными направлениями и деятельностью многих ученых с мировым именем. Перечислим лишь некоторые из них.

Большой вклад в геносистематику микроорганизмов внесли А. Н. Белозерский и А. С. Спирин, которые успешно проводили исследования состава РНК и ДНК растений и микроорганизмов. Результаты этих исследований привели к становлению молекулярной биологии и геносистематики.

В. Н. Шапошников является основателем отечественной технической микробиологии. Его работы по физиологии микроорганизмов посвящены изучению различных видов брожения. Он создал теорию физиологической двухфазности брожений, что позволило управлять процессами получения важных продуктов в микробиологических производствах.

Физиология и биохимия многих фототрофных и хемолитотрофных микроорганизмов были подробно изучены Е. Н. Кондратьевой с сотрудниками.

Экологическое направление микробиологии представлено работами В. Л. Омелянского, который разработал схемы круговорота веществ в природе и изучил жизнедеятельность микроорганизмов, участвующих в глобальных циклах азота (нитрификаторы и азотфиксаторы), серы (гнилостные, сульфатредуцирующие и тионовые бактерии) и железа (железобактерии). Методы прижизненного наблюдения микроорганизмов, внедренные в микробиологическую практику, – капилляры Перфильева, стекла обрастания Росси – Холодного, почвенная

камера и метод проращивания почвенной пыли по Холодному, активно используются и в настоящее время.

Роль микробных сообществ в разных природных и искусственных местообитаниях изучаются М. В. Ивановым и Г. А. Заварзиным с сотрудниками.

В области управляемого культивирования микроорганизмов Н. Д. Иерусалимским была разработана теория роста и развития микробов.

*В современной микробиологии развиты следующие основные направления:*

1) фундаментальные исследования (выяснение путей метаболизма, выделение, очистка ферментов, регуляция обмена веществ и т. д.);

2) систематика микроорганизмов и построение филогенетических древ;

3) экологическая микробиология (роль микроорганизмов в природных экосистемах и пищевых цепях);

4) популяционная микробиология (выяснение природы межклеточных контактов и взаимосвязь клеток в популяции);

5) медицинская, ветеринарная и сельскохозяйственная микробиология;

6) техническая (промышленная) микробиология (включает все практические аспекты).

Необходимо иметь в виду, что многие исследования происходят на стыке дисциплин (например, молекулярная микробиология, генная инженерия).

*Основными методами микробиологических исследований являются следующие:*

1) микроскопия (световая, люминесцентная, электронная, лазерная);

2) выделение чистых культур и контролируемое культивирование микроорганизмов;

3) аналитические методы (физиолого-биохимические, генетические и т. д.);

4) молекулярно-биологические методы (в том числе обнаружение микроорганизмов без выделения в чистые культуры).

## 2. ВВЕДЕНИЕ В МИКРОБИОЛОГИЮ

### 2.1. Предмет и задачи микробиологии

**Микробиология** – наука, предметом изучения которой являются микроскопические существа, называемые микроорганизмами, их биологические признаки, систематика, экология, взаимоотношения с другими организмами.

**Микроорганизмы** – наиболее древняя форма организации жизни на Земле. По количеству они представляют собой самую значительную и самую разнообразную часть организмов, населяющих биосферу.

**К микроорганизмам относят:**

- 1) бактерии;
- 2) вирусы;
- 3) грибы;
- 4) простейшие;
- 5) микроводоросли.

Общим признаком микроорганизмов являются их микроскопические размеры; отличаются они строением, происхождением, физиологией.

**Бактерии** – одноклеточные микроорганизмы растительного происхождения, лишённые хлорофилла и не имеющие ядра.

**Грибы** – одноклеточные и многоклеточные микроорганизмы растительного происхождения, лишённые хлорофилла, но имеющие черты животной клетки, эукариоты.

**Вирусы** – это уникальные микроорганизмы, не имеющие клеточной структурной организации.

**Простейшие** – микроорганизмы, состоящие из одной клетки. В отличие от бактерий и вирусов, у простейших есть одно или несколько ядер.

**Микроводоросли** – виды одноклеточных водорослевых организмов.

*Основные разделы микробиологии:* общая, техническая, сельскохозяйственная, ветеринарная, медицинская, санитарная.

*Общая микробиология* изучает наиболее общие закономерности, свойственные каждой группе перечисленных микроорганизмов: структуру, метаболизм, генетику, экологию и т. д.

Основной задачей *технической микробиологии* является разработка биотехнологии синтеза микроорганизмами биологически активных

веществ: белков, ферментов, витаминов, спиртов, органических веществ, антибиотиков и др.

*Сельскохозяйственная микробиология* занимается изучением микроорганизмов, которые участвуют в круговороте веществ, используются для приготовления удобрений, вызывают заболевания растений и др.

*Ветеринарная микробиология* изучает возбудителей заболеваний животных, разрабатывает методы их биологической диагностики, специфической профилактики и этиотропного лечения, направленного на уничтожение микробов-возбудителей в организме больного животного.

Предметом изучения *медицинской микробиологии* являются болезнетворные (патогенные) и условно-патогенные для человека микроорганизмы, а также разработка методов микробиологической диагностики, специфической профилактики и этиотропного лечения вызываемых ими инфекционных заболеваний.

Разделом медицинской микробиологии является *иммунология*, которая занимается изучением специфических механизмов защиты организмов людей и животных от болезнетворных микроорганизмов.

Предметом изучения *санитарной микробиологии* являются санитарно-микробиологическое состояние объектов окружающей среды и пищевых продуктов, разработка санитарных нормативов.

## **2.2. Систематика и номенклатура микроорганизмов**

Мир микробов включает любой организм микроскопических размеров, поэтому понятно, что термин «микроорганизм» не имеет таксономического смысла. Микроорганизмы встречаются в самых разных таксономических группах, причем другие члены этой группы могут быть и макроорганизмами (например, водоросли и грибы). Микроорганизмы – самая обширная по количеству представителей группа, и ее члены распространены повсеместно. У микроорганизмов встречаются все известные типы обмена веществ. Именно микроорганизмы были первыми живыми существами на нашей планете, которые и сформировали ее облик.

Накопление огромного фактического материала в микробиологии для удобства работы потребовало классифицировать изучаемые объекты.

Под **классификацией** понимают отнесение конкретного биологического объекта к определенной группе однородности (*таксону*) по совокупности присущих ему признаков. Отношения между таксонами организмов изучает **систематика**.

В современной классификации микроорганизмов принята следующая иерархия таксонов: домен, филум, класс, порядок, семейство, род, вид.

**Вид** – это основная таксономическая единица. Микробиологи пользуются биномиальной системой обозначения объекта (*номенклатуры*), включающей родовое и видовое названия, например *Escherichia coli*.

В настоящее время определение микроорганизмов (*идентификация*) базируется на морфофизиологических, биохимических и молекулярно-биологических критериях.

Для идентификации микроорганизмов-прокариот исследователи пользуются определителем Берджи.

Представление о месте микроорганизмов среди других живых существ эволюционировало с течением времени от отнесения их к животным или растениям до выделения в три отдельных **домена** (надцарства, империи).

Согласно современным представлениям, микроорганизмы делятся на прокариот и эукариот в зависимости от строения их клеток. Из-за того что большинство микроорганизмов устроено крайне примитивно и для их классификации простого описания было недостаточно, исследователи привлекали функциональные характеристики. Как правило, микробиологический объект невозможно классифицировать, не применив совокупность морфофизиологических, биохимических и молекулярно-биологических данных. При этом эти признаки могут иметь неодинаковую значимость.

Существует также более формальная **нумерическая таксономия**, в которой все признаки альтернативны и имеют «одинаковый вес». Это позволяет дать количественную оценку степени сходства и различия организмов путем вычисления коэффициентов сходства или соответствия.

Для использования нумерической классификации необходимо как можно более полно изучить фенотипические признаки микроорганизма, так как от этого зависит точность помещения его в данную группу.

В настоящее время преобладает *филогенетический подход* к систематике микроорганизмов, который учитывает родственные связи и пути эволюции организмов.

При такой классификации иерархия таксонов отражает генеалогическое древо.

Однако из-за отсутствия в большинстве случаев ископаемых остатков микроорганизмов невозможно напрямую установить исторический путь эволюции.

На основе исследований профессора Иллинойского университета К. Вёза (С. Woese, 1985) сделана попытка перехода к филогенетической классификации микроорганизмов путем сравнения нуклеотидных последовательностей 16S рРНК, состоящей из 1 500 нуклеотидов, из которых 900 консервативны.

Эта молекула обладает достаточно большой, но не чрезмерной информацией и считается своеобразным «биологическим хронометром». На основе множества сравнений с помощью компьютера было построено филогенетическое древо. Одновременно было доказано, что митохондрии и хлоропласта имеют бактериальное симбиотическое происхождение.

Анализ 16S рРНК позволяет определить место микроорганизма на филогенетическом древе, а дальше определение видового названия ведется традиционными микробиологическими методами. При этом 90 % совпадений свидетельствуют о принадлежности к определенному роду, 97 % – к определенному виду.

Более точным методом является ДНК-ДНК-гибридизация, которая дает более 30 % совпадений в пределах рода и более 70 % – в пределах вида.

Для более четкой дифференциации микроорганизмов на уровне рода и вида американским микробиологом Ритой Колвелл (1970) была предложена *полифилетическая (полифазная) таксономия*, предполагающая использование многоуровневой информации – от молекулярной до экологической. Для этого необходимо предварительно найти группы схожих штаммов, определить филогенетические позиции найденных групп, измерить различия между этими группами и их ближайшими соседями, собрать различные данные, дифференцирующие группы, предпочтительно на разных уровнях клеточной организации.

В настоящее время разрабатывается классификация всех живых существ, в которой выделены три *домена* (надцарства) на основе анализа нуклеотидной последовательности 16S рРНК:

- 1) *Bacteria*,
- 2) *Archaea*,
- 3) *Eukarya*.

В домен *Eukarya* вошли все эукариотические организмы как одноклеточные, так и многоклеточные, в том числе человек.

Домен *Bacteria* включает прокариотические микроорганизмы, имеющие типичные признаки бактерий, в частности клеточные оболочки, содержащие *пептидогликан*.

К сравнительно новому домену *Archaea* относятся микроорганизмы, разделенные на три филума: *Euryarchaeota*, *Crenarchaeota* и *Korarchaeota*. Первый включает повсеместно распространенные микроорганизмы. Это **метаногены** – строгие анаэробы, обитающие в донных осадках пресноводных зон, богатых органикой, или в рубце жвачных.

Широко распространены также *экстремальные галофиты*, растущие при высоких концентрациях соли и способные осуществлять особый тип фотосинтеза с помощью *бактериородопсина*, который на свету работает как протонная помпа.

Ко второму филуму относятся микроорганизмы, имеющие очень узкие и специфические места обитания. Это *экстремофилы*, зависящие от серных соединений, оптимумы pH и температуры роста которых отличаются экстремальными значениями.

Третий филум зарезервирован за представителями до сего времени некультивируемых прокариот, для которых, однако, известны последовательности генов, кодирующих молекулу 16S рРНК.

Кроме нуклеотидной последовательности 16S рРНК, археи отличаются от бактерий и эукарий рядом существенных признаков, описанных ниже:

- **строением мембран и липидов мембран.** В обычных липидах глицерол связан сложноэфирной связью с жирными кислотами, а у архей – простой эфирной связью с  $C_{20}$ -спиртом – *фитанолом*. Такие эфиры способны образовывать тетрамеры ( $C_{40}$ ), а цепи фитанола могут содержать пятичленные кольца. Мембрана, образованная из тетрамеров, более ригидна, так как у нее нет межслойного пространства. Археи могут иметь как обычные бислойные, так и ригидные монослойные мембраны, но чем экстремальнее условия, тем больше представителей с монослойными мембранами;

- **строением клеточных стенок.** У архей не найдены типичные для бактерий пептидогликановые (муреиновые) клеточные стенки.



Они представлены либо *псевдомуреином* (нет N-ацетилмурамовой к-слоты), либо белковым *S-слоем* (структурированным белком, содержащим «кислые» аминокислоты, за счет чего на поверхности клетки создается тонкий слой воды, отталкивающий ионы солей). Еще один вариант организации архей – полное отсутствие клеточной стенки, когда мембрана почти полностью представлена ригидным монослоем из тетрамеров, усиленным большим количеством пятичленных колец, например у *Thermo-plasma*;

• **особенностями метаболизма.** У архей ДНК связана с гистонами и имеет интронные участки, подобно эукариотам. В тРНК архей не найдено риботимина. РНК-полимеразы этих организмов больше похожи на эукариотические по составу субъединиц. Трансляция белка не чувствительна к хлорамфениколу (как у бактерий), зато чувствительна к дифтерийному токсину (как у эукариот). У архей найдены уникальные коферменты – метаноптерин, метанофуран, F<sub>420</sub>, F<sub>430</sub> (правда, метаноптерин и метанофуран обнаружены и у метилотрофов). Автотрофная фиксация углекислоты у архей часто происходит нециклическим путем (*ацетил-КоА-путь*). Галофильные археи осуществляют фотосинтез, связанный с функционированием особого белка – *бактериородопсина* с ретиналем в качестве простетической группы, по многим свойствам схожего с родопсином сетчатки зрительного органа животных.

Археи обычно существуют в экстремальных условиях и дают скудный рост. Однако в таких местообитаниях у них мало конкурентов, что позволило им сохраниться до настоящего времени.

Основной таксономической единицей систематики бактерий, как отмечалось выше, является вид.

**Вид** – это эволюционно сложившаяся совокупность особей, имеющая единый генотип, который в стандартных условиях проявляется сходными морфологическими, физиологическими, биохимическими и другими признаками.

Вид не является конечной единицей систематики. Внутри вида выделяют варианты микроорганизмов, отличающиеся отдельными признаками.

Так, различают:

- 1) серовары (по антигенной структуре);
- 2) хемовары (по чувствительности к химическим веществам);
- 3) фаговары (по чувствительности к фагам);

- 4) ферментовары;
- 5) бактериоциновары;
- 6) бактериоциногеновары.

**Бактериоцины** – вещества, продуцируемые бактериями и губительно действующие на другие бактерии. По типу продуцируемого бактериоцина различают бактериоциновары, а по чувствительности – бактериоциногеновары.

*Для видовой идентификации бактерий необходимо знать следующие их свойства:*

- 1) морфологические (форму и структуру бактериальной клетки);
- 2) тинкториальные (способность окрашиваться различными красителями);
- 3) культуральные (характер роста на питательной среде);
- 4) биохимические (способность утилизировать различные субстраты);
- 5) антигенные.

Виды, связанные генетическим родством, объединяют в роды, роды – в семейства, семейства – в порядки. Более высокими таксономическими категориями являются классы, отделы, подцарства и царства.

Согласно современной систематике патогенные микроорганизмы относятся к царству прокариот, патогенные простейшие и грибы – к царству эукариот, вирусы объединяются в отдельное царство – *Vira*.

Все прокариоты, имеющие единый тип организации клеток, объединены в один отдел – *Bacteria*.

Однако отдельные их группы отличаются структурными и физиологическими особенностями.

На этом основании выделяют:

- 1) истинные бактерии;
- 2) актиномицеты (рис. 1);
- 3) спирохеты (рис. 2);
- 4) риккетсии (рис. 3);
- 5) хламидии (рис. 4);
- 6) микоплазмы (рис. 5).

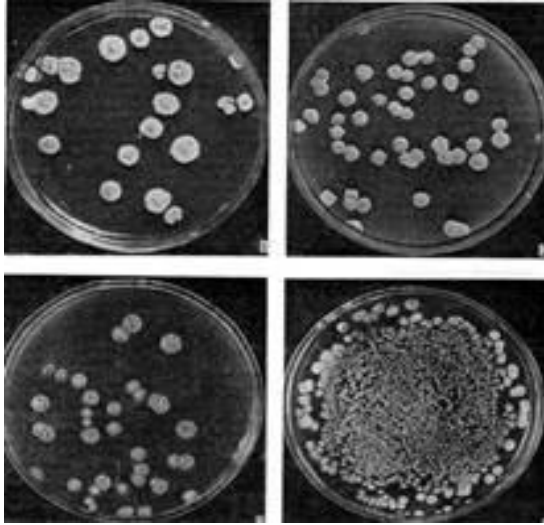


Рис. 1. Актиномицеты

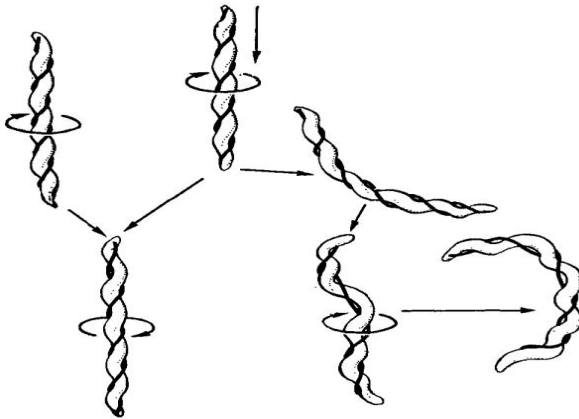


Рис. 2. Спирохеты



Рис. 3. Риккетсии

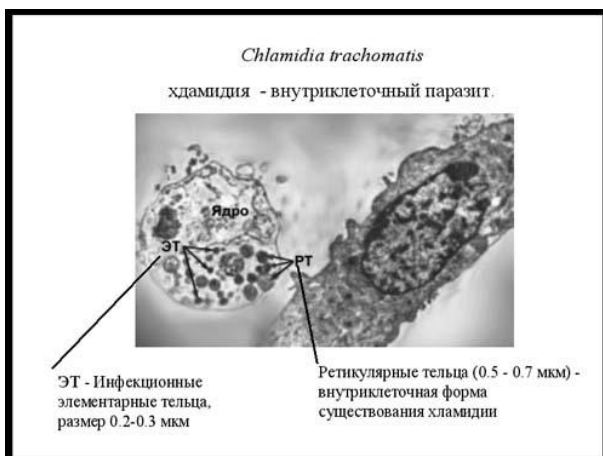


Рис. 4. Хламидии



Рис. 5. Микоплазмы

В настоящее время для систематики микроорганизмов используется ряд таксономических систем.

1. **Нумерическая таксономия.** Признает равноценность всех признаков. Для ее применения необходимо иметь информацию о многих десятках признаков. Видовая принадлежность устанавливается по числу совпадающих признаков.

2. **Серотаксономия.** Изучает антигены бактерий с помощью реакций с иммунными сыворотками. Наиболее часто применяется в медицинской бактериологии. Недостаток – бактерии не всегда содержат видоспецифический антиген.

3. **Хемотаксономия.** Применяются физико-химические методы, с помощью которых исследуется липидный, аминокислотный состав микробной клетки и определенных ее компонентов.

4. **Генная систематика.** Основана на способности бактерий с гомологичными ДНК к трансформации, трансдукции и конъюгации, на анализе внехромосомных факторов наследственности – плазмид, транспозонов, фагов.

Совокупность основных биологических свойств бактерий можно определить только у чистой культуры – это бактерии одного вида, выращенные на питательной среде.

### **2.3. Питательные среды и методы выделения чистых культур**

Для культивирования бактерий используют питательные среды, к которым предъявляется ряд требований.

1. **Питательность.** Бактерии должны содержать все необходимые питательные вещества.

2. **Изотоничность.** Бактерии должны содержать набор солей для поддержания осмотического давления, определенную концентрацию хлорида натрия.

3. **Оптимальный рН (кислотность) среды.** Кислотность среды обеспечивает функционирование ферментов бактерий; для большинства бактерий она составляет 7,2–7,6.

4. **Оптимальный электронный потенциал,** свидетельствующий о содержании в среде растворенного кислорода. Он должен быть высоким для аэробов и низким для анаэробов.

5. **Прозрачность** (чтобы был виден рост бактерий, особенно для жидких сред).

6. **Стерильность** (чтобы не было других бактерий).

#### **Классификация питательных сред.**

##### **1. По происхождению:**

- 1) естественные (молоко, желатин, картофель и др.);
- 2) искусственные – среды, приготовленные из специально подготовленных природных компонентов (пептона, аминокептида, дрожжевого экстракта и т. п.);
- 3) синтетические – среды известного состава, приготовленные из химически чистых неорганических и органических соединений (солей, аминокислот, углеводов и т. д.).

##### **2. По составу:**

- 1) простые – мясопептонный агар, мясопептонный бульон, агар Хоттингера и др.;
- 2) сложные – это простые питательные среды с добавлением дополнительного питательного компонента (кровяного, шоколадного агара): сахарный бульон, желчный бульон, сывороточный агар, жел-

точно-солевой агар, среда Китта – Тароци, среда Вильсона – Блера и др.

### 3. По консистенции:

- 1) твердые (содержат 3–5 % агар-агара);
- 2) полужидкие (0,15–0,7 % агар-агара);
- 3) жидкие (не содержат агар-агара).

### 4. По назначению:

1) общего назначения – среды для культивирования большинства бактерий (мясопептонный агар, мясопептонный бульон, кровяной агар);

2) специального назначения;

а) элективные – среды, на которых растут бактерии только одного вида (рода), а род других бактерий подавляется (щелочной бульон, 1%-ная пептонная вода, желточно-солевой агар, казеиново-угольный агар и др.);

б) дифференциально-диагностические – среды, на которых рост одних видов бактерий отличается от роста других видов по тем или иным свойствам, чаще биохимическим (среда Эндо, Левина, Гиса, Плоскирева и др.);

в) среды обогащения – среды, в которых происходит размножение и накопление бактерий-возбудителей какого-либо рода или вида, т. е. обогащение ими исследуемого материала (среда Кита – Тароци, селенитовый бульон).

Из-за малых размеров микроорганизмов работу в лаборатории проводят не с одной особью, а с популяцией организмов, или культурой. Культура микроорганизмов, состоящая из клеток одного вида, носит название **чистой культуры**. Если количество видов два и более, то говорят о **смешанной культуре**.

При выделении чистой культуры из природных местообитаний, где микроорганизмы в большинстве случаев растут в виде смешанных популяций, на первом этапе обычно пользуются предложенным С. Н. Виноградским методом получения **накопительных культур**, в которых преобладают организмы определенной группы. Накопление желаемых микроорганизмов происходит за счет создания **элективных условий** культивирования, являющихся благоприятными для данной группы. Другие организмы, также присутствующие в пробе, в этих условиях не размножаются либо характеризуются незначительным ростом.

Для получения чистой культуры необходимо владеть методами выделения чистых культур.

#### **Методы выделения чистых культур.**

1. Механическое разобщение на поверхности плотной питательной среды (метод штриха обжигом петли, метод разведений в агаре, распределение по поверхности твердой питательной среды шпателем, метод Дригальского).

2. Использование селективных питательных сред, на которых хорошо развиваются только определенные виды бактерий и плохо или совсем не растут другие виды.

3. Создание условий, благоприятных для развития одного вида (рода) бактерий (среды обогащения).

Чистую культуру получают в виде колоний – это видимое невооруженным глазом, изолированное скопление бактерий на твердой питательной среде, представляющее собой, как правило, потомство одной клетки.

### **2.4. Особенности строения бактериальной клетки. Основные органеллы и их функции**

#### **Отличия бактерий от других клеток.**

1. Бактерии относятся к прокариотам, т. е. не имеют обособленного ядра.

2. В клеточной стенке бактерий содержится особый пептидогликан – муреин.

3. В бактериальной клетке отсутствуют аппарат Гольджи, эндоплазматическая сеть, митохондрии.

4. Роль митохондрий выполняют мезосомы – инвагинации цитоплазматической мембраны.

5. В бактериальной клетке много рибосом.

6. У бактерий могут быть специальные органеллы движения – жгутики.

7. Размеры бактерий колеблются от 0,3–0,5 до 5–10 мкм.

По форме клеток бактерии подразделяются на кокки, палочки и извитые.

**В бактериальной клетке различают:**

*1) основные органеллы:*

а) нуклеоид;



- б) цитоплазму;
  - в) рибосомы;
  - г) цитоплазматическую мембрану;
  - д) клеточную стенку;
- 2) *дополнительные органеллы:*
- а) споры;
  - б) капсулы;
  - в) ворсинки;
  - г) жгутики.

**Цитоплазма** представляет собой сложную коллоидную систему, состоящую из воды (75 %), минеральных соединений, белков, РНК и ДНК, которые входят в состав органелл нуклеоида, рибосом, мезосом, включений.

**Нуклеоид** – ядерное вещество, распыленное в цитоплазме клетки. Не имеет ядерной мембраны, ядрышек. В нем локализуется ДНК, представленная двухцепочечной спиралью. Обычно она замкнута в кольцо и прикреплена к цитоплазматической мембране. Содержит около 60 млн. пар оснований. Это чистая ДНК, она не содержит белков гистонов. Их защитную функцию выполняют метилированные азотистые основания. В нуклеоиде закодирована основная генетическая информация, т. е. геном клетки.

Наряду с нуклеоидом в цитоплазме могут находиться автономные кольцевые молекулы ДНК с меньшей молекулярной массой – плазмиды. В них также закодирована наследственная информация, но она не является жизненно необходимой для бактериальной клетки.

**Рибосомы** представляют собой рибонуклеопротеиновые частицы размером 20 нм, состоящие из двух субъединиц – 30 S и 50 S. Рибосомы отвечают за синтез белка. Перед началом синтеза белка происходит объединение этих субъединиц в одну – 70 S. В отличие от клеток эукариотов, рибосомы бактерий не объединены в эндоплазматическую сеть.

**Мезосомы** являются производными цитоплазматической мембраны. Мезосомы могут быть в виде концентрических мембран, пузырьков, трубочек, в форме петли. Они связаны с нуклеоидом. Участвуют в делении клетки и спорообразовании.

Включения являются продуктами метаболизма микроорганизмов, которые располагаются в их цитоплазме и используются в качестве запасных питательных веществ. К ним относятся включения гликогена, крахмала, серы, полифосфата (волютина) и др.

## 2.5. Строение клеточной стенки и цитоплазматической мембраны

**Клеточная стенка** – упругое ригидное образование толщиной 150–200 ангстрем. Это важный и обязательный структурный элемент большинства прокариотных клеток, который располагается под капсулой или слизистым чехлом или непосредственно контактирует с окружающей средой.

*Выполняет следующие функции:*

- 1) защитную, осуществление фагоцитоза;
- 2) регуляцию осмотического давления;
- 3) рецепторную;
- 4) принимает участие в процессах питания, деления клетки;
- 5) антигенную (определяется продукцией эндотоксина – основного соматического антигена бактерий);
- 6) стабилизирует форму и размер бактерий;
- 7) обеспечивает систему коммуникаций с внешней средой;
- 8) косвенно участвует в регуляции роста и деления клетки.

Клеточная стенка при обычных способах окраски не видна, но если клетку поместить в гипертонический раствор (при опыте плазмолиза), то она становится видимой.

Клеточная стенка вплотную примыкает к цитоплазматической мембране у грамположительных бактерий, у грамотрицательных бактерий клеточная стенка отделена от цитоплазматической мембраны периплазматическим пространством.

Клеточная стенка имеет **два слоя**:

- 1) наружный – пластичный;
- 2) внутренний – ригидный, состоящий из муреина.

В зависимости от содержания муреина в клеточной стенке различают грамположительные и грамотрицательные бактерии (по отношению к окраске по Грамму).

У **грамположительных бактерий** муреиновый слой составляет 80 % от массы клеточной стенки. По Грамму, они окрашиваются в синий цвет. У грамположительных бактерий муреиновый слой составляет 20 % от массы клеточной стенки, по Грамму, они окрашиваются в красный цвет.

У **грамположительных бактерий** наружный слой клеточной стенки содержит липопротеиды, гликопротеиды, тейхоевые кислоты, у них

отсутствует липополисахаридный слой. Клеточная стенка выглядит аморфной, она не структурирована.

Поэтому при разрушении муреинового каркаса бактерии полностью теряют клеточную стенку (становятся протопластами), не способны к размножению.

**У грамотрицательных бактерий** наружный пластический слой четко выражен, содержит липопротеиды, липополисахаридный слой, состоящий из липида А (эндотоксина) и полисахарида (О-антигена). При разрушении грамотрицательных бактерий образуются сферопласты – бактерии с частично сохраненной клеточной стенкой, не способные к размножению.

К клеточной стенке прилегает цитоплазматическая мембрана. Она обладает избирательной проницаемостью, принимает участие в транспорте питательных веществ, выведении экзотоксинов, энергетическом обмене клетки, является осмотическим барьером, участвует в регуляции роста и деления, репликации ДНК, является стабилизатором рибосом.

Имеет обычное строение: два слоя фосфолипидов (25–40 %) и белки.

*По функции мембранные белки разделяют на три следующих вида:*

- 1) структурные;
- 2) пермеазы – белки транспортных систем;
- 3) энзимы – ферменты.

Липидный состав мембран непостоянен. Он может меняться в зависимости от условий культивирования и возраста культуры. Разные виды бактерий отличаются друг от друга по липидному составу своих мембран.

#### **Дополнительные органеллы бактерий.**

*Ворсинки (пили, фимбрии)* – это тонкие белковые выросты на поверхности клеточной стенки. Функционально они различны. Различают комон-пили и секс-пили. Комон-пили отвечают за адгезию бактерий на поверхности клеток макроорганизма. Они характерны для грамположительных бактерий. Секс-пили обеспечивают контакт между мужскими и женскими бактериальными клетками в процессе конъюгации. Через них идет обмен генетической информацией от донора к реципиенту. Донор – мужская клетка – обладает секс-пили. Женская

клетка – реципиент – не имеет секс-пили. Белок секс-пили колируется генами F-плазмиды.

*Жгутики* – органеллы движения. Есть у подвижных бактерий. Это особые белковые выросты на поверхности бактериальной клетки, содержащие белок – флагелин. Количество и расположение жгутиков может быть различным.

Различают бактерии (рис. 6):

- 1) монотрихи (имеют один жгутик);
- 2) лофотрихи (имеют пучок жгутиков на одном конце клетки);
- 3) амфитрихи (имеют по одному жгутику на каждом конце);
- 4) перитрихи (имеют несколько жгутиков, расположенных по периметру).

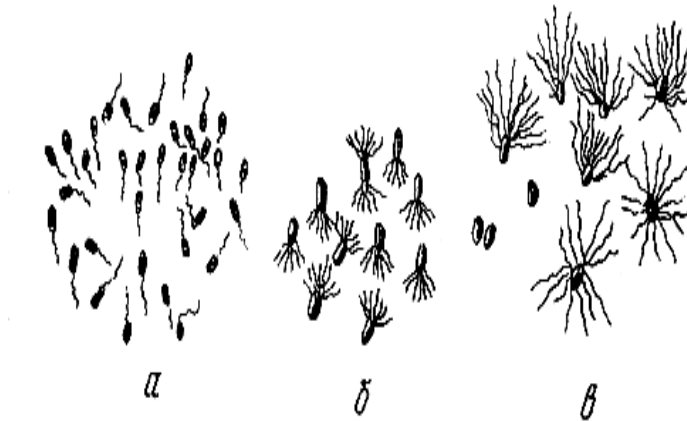


Рис. 6. Бактерии с различным расположением жгутиков

О подвижности бактерий судят, рассматривая живые микроорганизмы, либо косвенно – по характеру роста в среде Пешкова (полужидком агаре). Неподвижные бактерии растут строго по уколу, а подвижные дают диффузный рост.

Капсулы представляют собой дополнительную поверхностную оболочку. Они образуются при попадании микроорганизма в макроорганизм. Функция капсулы заключается в защите от фагоцитоза и антител.

Различают макро- и микрокапсулы. Макрокапсулу можно выявить, используя специальные методы окраски, сочетая позитивные и негативные методы окраски. Микрокапсула – утолщение верхних слоев клеточной стенки. Обнаружить ее можно только при электронной микроскопии. Микрокапсулы характерны для вирулентных бактерий.

**Среди бактерий различают:**

1) истиннокапсульные бактерии (род *Klebsiella*) – сохраняют капсулообразование и при росте на питательных средах, а не только в макроорганизме;

2) ложнокапсульные – образуют капсулу только при попадании в макроорганизм.

Капсулы могут быть полисахаридными и белковыми. Они играют роль антигена, могут быть фактором вирулентности.

**Споры** – это особые формы существования некоторых бактерий при неблагоприятных условиях внешней среды. Спорообразование присуще грамположительным бактериям. В отличие от вегетативных форм споры более устойчивы к действию химических, термических факторов (рис. 7).

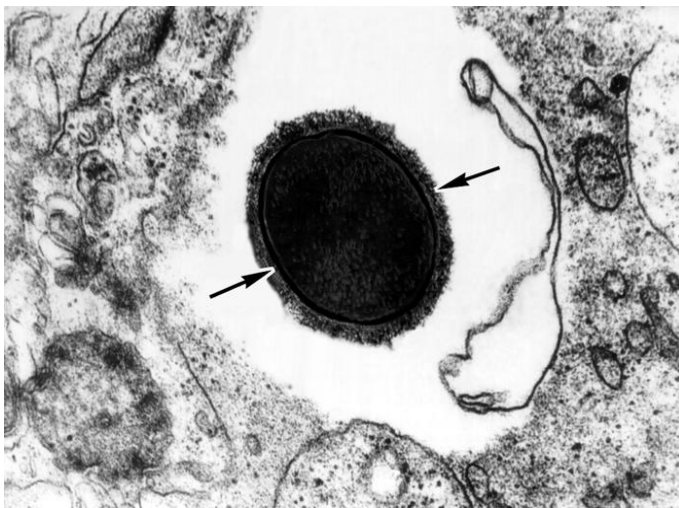


Рис. 7. Электронограмма ультратонкого среза спор

Чаще всего споры образуют бактерии рода *Bacillus* (рис. 8) и *Clostridium* (рис. 9).

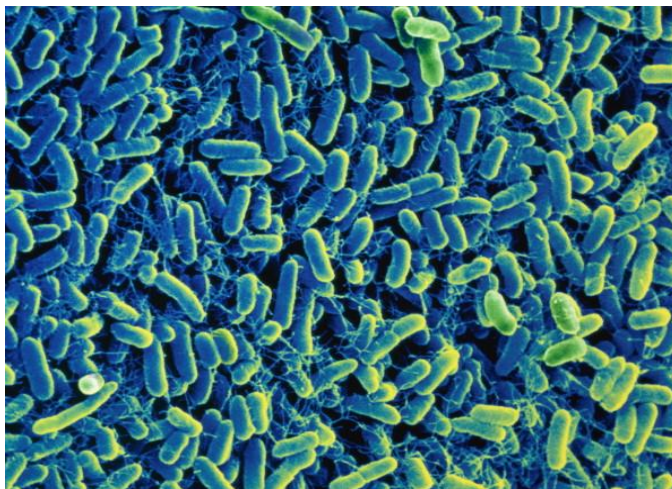


Рис. 8. Цилиндрические бактерии рода *Bacillus*



Рис. 9. Бактерия *Clostridium difficile*

Процесс спорообразования заключается в утолщении всех оболочек клетки. Они пропитываются солями дигидрата кальция, становятся плотными, клетка теряет воду, замедляются все ее пластические процессы.

При попадании споры в благоприятные условия она прорастает в вегетативную форму.

У грамотрицательных бактерий также обнаружена способность сохраняться в неблагоприятных условиях в виде некультивируемых форм. При этом нет типичного спорообразования, но в таких клетках замедлены метаболические процессы, невозможно сразу получить рост на питательной среде. Однако при попадании в макроорганизм они превращаются в исходные формы.

### 3. ПРАКТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ

**Сферы использования микроорганизмов.** Свойства микроорганизмов, важные для человеческой практики, позволяют условно подразделить области действия микроорганизмов на два больших класса:

- 1) связанные с полезной деятельностью микробов;
- 2) связанные с негативной деятельностью микробов по отношению к человеку.

*К первой группе относятся:*

- а) производство продуктов питания;
- б) производство микробного белка (пищевого и кормового) и пищевых добавок;
- в) получение индивидуальных химических веществ;
- г) получение вакцин и препаратов для медицины, ветеринарии, сельского хозяйства;
- д) выщелачивание металлов из руд;
- е) очистка и переработка промышленных и бытовых отходов;
- ж) создание замкнутых систем жизнеобеспечения;
- з) использование микроорганизмов в качестве тест-систем и биосенсоров;
- и) использование микроорганизмов в качестве моделей и инструментов научных исследований.

*Вторую группу составляют такие процессы, как:*

- а) порча пищевых продуктов;
- б) микробная коррозия промышленных и бытовых объектов и материалов;
- в) болезнетворность микроорганизмов для человека, животных и растений.

### **3.1. Микробиологическое производство продуктов**

**Пищевые производства, основанные на микробном метаболизме.** Еще задолго до того, как были поняты механизмы этих процессов, человек интуитивно научился использовать их в своей жизни. Древние египтяне, более 6 тыс. лет назад почувствовавшие необычный и приятный вкус напитка, получающегося при длительном настаивании хлебных зерен в воде без доступа кислорода, и не подозревали, что стоят у истоков развития пивной индустрии, имеющей в настоящее время ежегодный мировой оборот в 50 млрд. долларов США и производящей ежегодно 80 млн. тонн пива.

Давно известны способы выпечки хлеба, приготовления кваса и вина.

Например, у народов Севера с древних времен и до наших дней сохранился способ приготовления китового мяса, позволяющий им восполнять недостаток витаминов и аминокислот (сырое мясо заворачивают в шкуру и кладут под снег для «вызревания»: развивающиеся микроорганизмы образуют витамины, а частичный гидролиз белка дает пептиды и аминокислоты).

Микроорганизмы применяют также для производства молочных продуктов, сыра, хлеба, квашеной капусты, маринадов, вина, некоторых мясных изделий и различных азиатских и африканских национальных кушаний.

Однако неконтролируемый рост микроорганизмов в пищевых продуктах может вызвать их порчу.

Поэтому микробиологи, работающие в современной пищевой промышленности, не только следят за правильным использованием микробных культур, но и разрабатывают методы увеличения сроков хранения таких продуктов.



### 3.1.1. Молочные продукты. Использование молочнокислых бактерий (МКБ)

С незапамятных времен люди готовили большое количество молочных продуктов, отличающихся вкусом, ароматом и питательными свойствами, зависящими от природы используемой закваски. Общее свойство таких процессов – это образование большого количества молочной кислоты из сахара, что приводит к снижению pH и предотвращает развитие микроорганизмов, вызывающих негативные процессы.

Молоко – один из основных сельскохозяйственных продуктов. Его питательные свойства делают его замечательным источником белка, углеводов, минералов и витаминов. Эти же качества позволяют молоку быть прекрасной средой для роста и развития микроорганизмов. Сырое молоко содержит микробные клетки, попавшие в него при дойке, а также при транспортировании и хранении. В норме молоко стерильно, когда оно вытекает из коровьего вымени. В процессе доения и при последующих переливах из емкости в емкость в молоко попадают микроорганизмы. Число их варьирует в зависимости от условий получения молока и от коровы к корове, однако оно не должно превышать рекомендованных стандартов.

Хотя разрешенные значения достаточно высоки, качественное молоко не содержит больше нескольких сотен клеток микроорганизмов на 1 мл, а загрязненное молоко может включать несколько миллионов микробных клеток в 1 мл.

Сырое молоко от здоровой коровы обычно содержит *Lactococcus lactis* и другие молочнокислые микроорганизмы (стрептококки и лактобациллы), колиформные бактерии и психрофильные грамотрицательные палочки (*Pseudomonas*, *Alcaligenes* и *Flavobacterium*). Эти бактерии попадают в молоко с поверхности вымени, с рук работников, с пылью и из навоза. Если оборудование для дойки не стерилизовать, то оно быстро покрывается большим количеством микроорганизмов.

Молоко скисает и портится вследствие роста, прежде всего, *молочнокислых бактерий*. Первый признак порчи молока – кислый вкус продукта из-за образования молочной кислоты, которая затем приводит к свертыванию белков молока и формированию творожистого сгустка.

Непастеризованное молоко в процессе порчи проходит четыре этапа: сначала развиваются молочнокислые кокки, образующие молочную кислоту, затем начинают расти более ацидотолерантные *Lactobacillus*, потом доминируют дрожжи и плесневые грибы, расщепляя накопившийся лактат и таким образом понижая кислотность. Далее активизируются бактерии, гидролизующие белок, что приводит к появлению гнилостного запаха и горького вкуса. При этом молоко из белого может становиться почти прозрачным (пептонизация белка).

Сбраживание сырого молока гомоферментативными *Lc. lactis* приводит к образованию преимущественно молочной кислоты. Многие другие бактерии также могут вызывать сбраживание молока с образованием кислот, особенно если температура и другие условия не способствуют развитию МКБ.

Коли-формы вырабатывают небольшое количество лактата и значительно больше других продуктов, например, уксусной кислоты, fumarата и бутандиола.

Еще один источник заражения молока – работники молочных ферм. Носители сальмонелл, *Corynebacterium diptheriae*, шигелл и других болезнетворных микроорганизмов могут способствовать внесению патогенов в молоко. Другие патогены попадают в молоко от зараженной коровы. Возбудители туберкулеза крупного рогатого скота (*Mycobacterium spp.*), бруцеллеза (*Brucella abortus*) и Ку-лихорадки (*Coxiella burnetii*) могут быть занесены в молоко от инфицированного животного и попасть к человеку.

Обработанное молоко может быть инфицировано при несоблюдении режима обработки или при использовании загрязненного оборудования. Санитарные инспекторы регулярно проверяют молочные заводы, но иногда загрязнение не удается вовремя обнаружить. В этом случае могут возникнуть эпидемии, вызванные молоком.

Все неспортивные микроорганизмы сырого молока (в том числе патогенные) уничтожаются в процессе *пастеризации*. Методику пастеризации вначале опробовали на клетках *Mycobacterium tuberculosis* и позднее модифицировали для *Coxiella burnetii*, так как их рассматривают как наиболее устойчивые к нагреву патогены, обнаруживаемые в молоке. Пастеризация убивает этих и других патогенов и увеличивает время хранения молока, существенно уменьшая число микроорганизмов, вызывающих его порчу, изменение вкусовых характеристик и сохраняя питательную ценность. В Европе и США (а с недавних пор и в России) молоко продается в форме «ультравысокотемпературного»,

когда его нагревают в течение нескольких секунд при 137,8 °C (280 °F), а затем разливают в стерильные пакеты, защищенные от проникновения воздуха фольгой. Такое молоко может храниться в течение нескольких месяцев и даже после открывания пакета его можно держать в бытовом холодильнике от 10 до 21 суток в зависимости от количества бактерий, проникших при вскрытии пакета, и температуры холодильника.

Для проверки эффективности пастеризации молока используют фосфатазный тест. Фосфатаза, присутствующая в сыром молоке, при пастеризации разрушается. Ее отсутствие в пастеризованном молоке показывает, что процесс проведен правильно. Фосфатазный тест основан на способности фермента расщеплять фенилфосфат натрия на фенол и фосфат натрия. Фенол, выделенный в результате такого гидролиза, может быть измерен. Скорость его образования определяет степень активности фермента. Простота фосфатазного теста позволяет быстро определять эффективность пастеризации молока.

Микроорганизмы, с одной стороны, могут так изменять молоко, что оно становится непригодным для потребления человеком, а с другой – они служат важными компонентами производства изделий из молока.

Кисломолочные продукты, творог, сыр – лишь некоторые изделия из этого ряда. МКБ сбраживают лактозу молока с образованием лактата. В течение тысячелетий люди используют этот процесс для сохранения молока без охлаждения и для приготовления напитков с приятным вкусом и ароматом.

Сквашенное молоко образуется после добавления в него стартовых культур МКБ. В процессе брожения они подкисляют молоко, образуя ароматические вещества. При получении простокваши и сметаны *Lactococcus lactis subsp. cremoris* или *Lc. lactis* используют для образования молочной кислоты, а *Leuconostoc cremoris* или *L. dextranicum* – для синтеза ароматизаторов (уксусной кислоты и ацетилметилкарбинола). При этом бактерии добавляют или в цельное молоко (простокваша), или в сливки (сметана).

Йогурт получают при первичном упаривании снятого молока. В концентрированное молоко добавляют *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*, и смесь инкубируют при температуре 15 °C в течение нескольких часов. Характерный вкус йогурта получается из сочетания вкусов молочной кислоты и ацетальдегида, образуемого *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus*. В йогурт часто

добавляют фруктовые наполнители, чтобы замаскировать резкий вкус ацетальдегида.

Для приготовления ацидофилина используют стерильное молоко с добавлением *Lactobacillus acidophilus*. Необходимость стерилизации молока перед добавлением стартовой культуры объясняется тем, что рост *Lactobacillus acidophilus* легко подавляется другими культурами. Конечный продукт обладает лечебным действием, так как он восстанавливает нормальную микробиоту кишечника после приема антибиотиков.

Болгарская простокваша, которую готовят путем внесения в молоко *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus*, похожа на обычную простоквашу, однако отличается от нее кислотностью и отсутствием аромата.

Кефир и кумыс – напитки, характерные для восточных и южных частей Европы. Кефир готовят из коровьего, овечьего или козьего молока в процессе одновременного молочнокислого и спиртового брожения. Бактерии (*Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus* и *Lc. lactis subsp. lactis*) образуют кислоту, а дрожжи – этанол. В молоке эти смешанные культуры растут в виде консорциумов («кефирных зерен»), которые могут быть отделены от продукта, сохранены и вновь использованы как стартовые культуры.

Кумыс готовят по той же технологии, но из кобыльего молока. И кефир, и кумыс – слабоалкогольные напитки, содержащие 1–2 % спирта.

Особенностью бифидопродуктов является наличие в стартовых культурах представителей рода *Bifidobacterium* либо внесение живых клеток этих микроорганизмов в уже сквашенные молочные продукты.

Приготовление масла является популярным методом хранения молочного жира. Масло готовят путем взбивания сливок до момента, когда глобулы молочного жира хорошо отделяются от остального содержимого. Субстрат – это свежие сливки или сливки с добавлением стартовых культур, например, *Lc. lactis subsp. diacetylactis* или *lactis*. Брожение помогает убрать белковую фракцию за счет ее кислотной денатурации, а диацетил, образуемый этими бактериями, придает маслу его характерный запах, цвет и вкус. Высокое содержание жира и низкая активность воды в масле не позволяют развиваться в нем микроорганизмам, что дает возможность хранить масло дольше, чем свежее молоко.

Считается, что сыр как продукт возник в Азии 8 тыс. лет назад. Он использовался римскими войсками при завоевании Европы в качестве высокобелкового изделия из молока. И сегодня сыр – популярный продукт, имеющий около 2 000 разновидностей, изготавливаемых во всем мире. Большинство сыров делают из коровьего молока (цельного или снятого), хотя есть сорта, полученные из сливок или молока других животных (в Европе и в юго-западной Азии в основном используют молоко овечьё или козье). Для сыра применяют также молоко буйволиное, верблюжье и лам. Тип используемого молока влияет на аромат и цвет сыра. Овечий и козий сыры более острые и ароматные по сравнению с сырами из коровьего молока, так как содержат больше каприловой, капроновой и каприновой кислот. Эти жирные кислоты придают молоку резкий вкус. Коровье молоко содержит различные количества каротина, поэтому сыры из него имеют желтоватый оттенок, тогда как молоко других животных (коз, овец, буйволов и т. д.) этого вещества не имеет, и сыры, изготовленные на его основе, обычно белого цвета.

Сыры делят на две категории – незрелые (невыдержанные) и зрелые (выдержанные), которые различаются по периоду созревания.

Выдержанные сыры созревают от 1 до 16 месяцев, тогда как невыдержанные используют сразу после отжима молочно-белкового сгустка.

Сыры готовят, добавляя стартовые культуры молочнокислых бактерий к свежему молоку для образования творожистого сгустка. Молоко подогревают до температуры, оптимальной для роста бактерий. Для *Lactococcus lactis* *subsp. cremoris* и *lactis* обычно требуется температура от 20 до 27 °С для брожения и образования сгустка. Некоторые сыры (например, Швейцарский) готовят при нагревании сгустка до более высоких температур (50–54 °С). В этих случаях стартовые культуры содержат бактерии, выдерживающие такой нагрев (*S. thermophilus*, *Lb. delbrueckii* *subsp. bulgaricus* или *Lb. helveticus*). Для образования гладкого и твердого сгустка в молоко добавляют также фермент реннин, который помогает коагулировать белки молока. Раньше реннин добывали из желудка телят, сейчас его получают из специальных микроскопических грибов.

Перед созреванием молочную сыворотку отделяют от сырного сгустка, сгусток прессуют и помещают в солевую ванну для просаливания, чтобы снизить возможность роста нежелательных микробов.

Просаливание сыров также придает им необходимый вкус и аромат. За этой стадией следует стадия выдерживания. Микроорганизмы, участвующие в приготовлении сыра на стадии его созревания, могут быть введены в процесс в разное время. Некоторые культуры, например пропионовые бактерии, лактобациллы, стрептококки для швейцарских сыров, добавляют в молоко до стадии образования сгустка. Другие, например *P. roqueforti* для Рокфора и прочих голубых сыров, вводят в уже сформированный сгусток.

При созревании сыра проходит несколько процессов. Многие МКБ стартовых культур при выдержке сыра погибают, выделяя внеклеточные ферменты, которые участвуют в превращениях жиров, углеводов и белков в сгустке. Микроорганизмы стадии созревания, добавленные к уже сформированному сгустку, сбраживают углеводы и молочную кислоту, остающиеся в сгустке, и образуют химические вещества, которые придают сыру характерный аромат, вкус и физические особенности.

Так, глазки Швейцарского сыра образуются вследствие выделения  $\text{CO}_2$  пропионовыми бактериями. Голубой цвет и характерный вкус Рокфора и других голубых сыров – следствие роста на поверхности голубой плесени *P. roqueforti*. Сыр Рокфор готовят и выдерживают в известняковых пещерах в области Рокфор во Франции, отсюда его название.

Величина периода выдержки сыра определяет его твердость. Твердые сыры (Чеддер, Швейцарский, Пармезан и Эдам) выдерживают от 2 до 16 месяцев, полутвердые (Рокфор, Блю, Министерский и Брик) – от 2 до 3 месяцев, а мягкие сыры (Лимбургский, Бри и Камамбер) – еще меньше. Невыдержанные мягкие сыры, такие, как творожные, рикотта и сливочные, не требуют выдержки и могут употребляться в пищу сразу после образования сгустка.

**Другие продукты.** Еще одна область использования молочно-кислых бактерий – *закваски для мясных и рыбных продуктов* (часто принадлежность национальной кухни). Так готовят некоторые сорта сосисок, колбасы типа салями, сервелат и различные рыбные блюда японской кухни. Стартовые культуры в этих процессах – *Pediococcus cerevisiae*, *Lactobacillus plantarum*, на стадии дозревания – иногда *Aspergillus glaucus*.

Некоторые колбасы готовят с помощью тщательно контролируемых бродительных процессов. Например, *Pediococcus cerevisiae* (об-

разование молочной кислоты) используют для приготовления салями, ливанской колбасы и «летних» сосисок. Кислоты, образуемые в результате гетероферментативного молочнокислого брожения, снижают рН, защищают мясо от порчи и придают ему характерный резкий привкус.

Молочнокислое брожение применяют также при приготовлении квашеных овощей и кислой капусты, а также при силосовании кормов. Образующаяся молочная кислота и низкий уровень рН выступают здесь в качестве естественных консервантов.

**Переработка овощей.** Такие овощи, как капуста, морковь, огурцы, зеленые томаты, листовые овощи, зелень и оливки, подвергают молочнокислому брожению для получения новых продуктов и предохранения овощей от порчи. Другие типы брожений, особенно при обработке соевых бобов, используют для получения специального вкуса, аромата и текстуры новых продуктов.

Капусту квасят путем молочнокислого сбраживания нарезанных и перетертых с солью капустных листьев. Соли обычно добавляют от 2,25 до 2,5 % по массе для усиления экстракции капустного сока, снижения риска появления нежелательных микроорганизмов, контроля развития микробиоты при сбраживании и поддержания равномерного распределения микроорганизмов в бродящей массе. Анаэробные условия создаются в просоленной массе нарезанных капустных листьев и в окружающем их соке в результате продолжающегося дыхания самих листьев и бактериального метаболизма.

Образование кислой капусты сопровождается сукцессией бактериальной популяции. В начальный период брожения в бродящей массе могут преобладать колиформные бактерии *Enterobacter cloacae*, которые образуют газ и смесь летучих жирных кислот наряду с небольшим количеством лактата. Накопление молочной кислоты в капустной массе приводит к возникновению селективного давления на микробную популяцию, вызывая сукцессионный сдвиг в доминирующих группах микроорганизмов. В результате этого формируется микробное сообщество с преобладанием *Leuconostoc mesenteroides*, который растет при температуре 21 °С и не подвержен действию 2,5%-ного NaCl. К этому времени накапливается до 1 % по объему молочной кислоты, а дрожжи и некоторые бактерии могут расти на поверхности бродильного чана.

Продолжающаяся сукцессия бактериальных популяций стимулирует рост *Lactobacillus plantarum*, которая образует кислоты, но не

газы. На этой стадии брожения концентрация лактата может возрасти до 1,5–2,0 %. Кроме того, развитие *Lb. plantarum* снижает концентрацию маннитола, выделяемого *L. mesenteroides* и придающего капусте горечь. На этой стадии брожение можно остановить, охладив чан или законсервировав продукт. Если же в бродящей массе остается несброженный сахар или маннитол, то сукцессионный процесс продолжается, давая преимущество развитию образующего газ вида *Lactobacillus brevis*. Рост этого микроорганизма может привести к увеличению концентрации лактата до 2,4 % с одновременным появлением у капусты горького вкуса. У высококачественной квашеной капусты содержание молочной кислоты составляет 1,7 % при низкой концентрации диацетилла, придающего вкус и аромат конечному продукту.

Соленые огурцы получают традиционным методом засолки с использованием природной микробиоты, ассоциированной с поверхностью этих овощей. Для контроля за процессом брожения необходимо строго выдерживать температуру и соленость раствора для засолки. Контролируемый процесс засолки происходит при введении в бродильный чан *Lb. plantarum* и *Pediococcus cerevisiae*.

При традиционном способе засолки продолжительность процесса составляет 6–8 недель. В течение этого периода концентрацию соли постепенно увеличивают, доводя ее до 15,9 % NaCl. В начале брожения, когда концентрация соли еще невелика, в чане могут развиваться представители многих родов бактерий, включая *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Bacillus*. С увеличением содержания соли преимущество в развитии получают бактерии *L. mesenteroides*, *Enterococcus faecalis* и *P. cerevisiae*. При повышении концентрации лактата и соли доминирующим видом становится *Lb. plantarum*, и эта ситуация сохраняется до достижения 10%-ного содержания NaCl. На поздних стадиях брожения доминируют дрожжи, способные расти при высоких концентрациях соли, а некоторые углеводы превращаются в этанол. Развитие пленкообразующих дрожжей родов *Debaryomyces*, *Pichia*, *Endomycopsis* и *Candida* снижает концентрацию лактата.

Из-за сложности смены доминирующих популяций микроорганизмов при таком естественном брожении процесс часто переходит в неконтролируемый, заканчивающийся порчей продукта, появлением плавающих и взрывающихся огурцов вследствие избыточного газообразования внутри них. Могут также получаться «пустые» огурцы, внутреннее содержимое которых сжалось из-за высокой концентрации



соли или уксусной кислоты; дурно пахнущие плоды с повышенным образованием сероводорода; черные огурцы вследствие образования бактериального пигмента; огурцы, размягченные под действием грибных протеаз и скользкие вследствие роста на их поверхности капсульных форм бактерий.

Контролируемое брожение с введением чистых культур *P. cerevisiae* и *Lb. plantarum* после удаления естественной микробиоты с поверхности огурцов фумигацией или хлорированием резко повышает вероятность выхода качественного продукта.

Кислотность солений отражает количество молочной кислоты, образующейся в процессе брожения. Некоторые виды солений производят с изменением основной технологии. Например, при производстве «укропных» (маринованных) огурцов используют солевой раствор с концентрацией от 7,5 до 8,5 % соли. Уксус обычно добавляют для предотвращения развития нежелательных микробов, а укроп – для вкуса. При низкой концентрации соли на начальных стадиях брожения могут расти различные почвенные бактерии, которые находятся на поверхности огурцов, а с накоплением лактата начинают доминировать *L. mesenteroides*, *Enterococcus faecalis*, *P. cerevisiae* и *L. plantarum*. Конечное содержание молочной кислоты в маринованных огурцах достигает 1,0–1,5 %.

Производство зеленых оливок включает стадию молочнокислого брожения. Собранные плоды промывают раствором едкого натра, который удаляет из них большую часть горького фенольного гликозида; придающего свежим оливкам очень неприятный вкус. Затем плоды помещают в солевой раствор и подвергают молочнокислому брожению в течение 2–10 месяцев. Через 2 недели солевой раствор стабилизируется в результате развития микробной популяции, использующей экстрагируемые из оливок вещества.

На промежуточной стадии, длящейся 2–3 недели, доминирующим бактериальным родом становится *Leuconostoc* и накапливается молочная кислота. На конечном этапе брожения преобладают *Lb. plantarum* и *Lb. brevis*, встречаются также дрожжи и различные бактерии. В готовом продукте содержится около 7,1 % молочной кислоты.

Некоторые восточные кушанья готовят из сброженных соевых бобов или риса. Соевый соус – это коричневая соленая жидкость с резким вкусом, которую в Японии называют «шойю». Соевый соус используют как приправу или в качестве основы для приготовления дру-

гих соусов. Стартовая культура для приготовления соевого соуса образуется путем твердофазного сбраживания койи (смесь соевых бобов и зерен пшеницы), которую засевают спорами *Aspergillus oryzae*. Смесь смачивают, но не погружают в жидкость. Грибы развиваются на поверхности бобов и зерен, образуя различные ферменты, в том числе протеазы и амилазы. В процессе участвуют также различные популяции бактерий, среди которых доминируют молочнокислые виды. После развития стартовой культуры смесь высушивают и экстрагируют.

Экстракт добавляют к смеси размолотых автоклавированных соевых бобов, размолотой и разваренной пшеницы и пропаренных отрубей. Пюре с инокулятом койи выдерживают в течение нескольких дней при температуре 30 °С на плоских поддонах, а затем смачивают концентрированным солевым раствором. В результате образуется смесь, называемая «мароми». Ее выдерживают от нескольких недель до года, в зависимости от температуры инкубации, во время которой действуют амилазы, протеиназы и другие ферменты койи и наблюдается сукцессия микробных популяций. Созревание начинается с доминирования молочнокислых бактерий, в том числе *Pediococcus soyaе*, а затем появляются этанообразующие дрожжи *Saccharomyces rouxii*, *Zygosaccharomyces soyaе* и *Torulopsis spp.* Самые важные организмы при таком сбраживании – это *A. oryzae*, образующие амилазы и протеазы, лактобациллы, синтезирующие значительные количества естественного консерванта лактата, и дрожжи, образующие спирт, усиливающий вкус.

Интересная проблема возникла при организации производства соевого соуса в США. Дело в том, что в Японии смесь созревает в цементных поддонах, в порах которых задерживаются необходимые для процесса микроорганизмы. В США для вторичного выдерживания использовали стерилизуемые поддоны из нержавеющей стали и поначалу было трудно идентифицировать, поддерживать и добавлять в нужных пропорциях культуры, необходимые для получения правильного вкуса соевого соуса. В результате исследований был достигнут идеальный вариант, и теперь только опытный дегустатор может различить соусы, приготовленные в США и Японии.

Мисо также готовят путем брожения койи с помощью *A. oryzae*. Пропаренный полированный рис выкладывают в неглубокие противни и на них выращивают стартовые культуры. Койи затем смешивают с размолотыми и разваренными соевыми бобами, добавляют соль и вы-

держивают при температуре 28 °С в течение недели, потом при 35 °С – в течение 2 месяцев и еще несколько недель при комнатной температуре. Мисо затем перемешивают до пастообразного состояния и добавляют в качестве приправы к другим блюдам.

Темпе – это индонезийское кушание, изготовленное из соевых бобов. Бобы замачивают при 25 °С, подсушивают и инокулируют спорами различных видов грибов из рода *Rhizopus*. Смесь выдерживают при температуре 32 °С в течение 20 часов, чтобы дать прорасти грибному мицелию. Затем продукт подсаживают и перед едой жарят.

Тофу (в Японии) и софу (в Китае) – продукты, полученные при сбраживании бобов сои с помощью грибов рода *Mucor*. Бобы замачивают, размалывают до пастообразного состояния и створаживают при добавлении солей магния и кальция. Сформированные после прессования блоки помещают на противни и выдерживают при температуре 14 °С в течение месяца для развития грибных популяций.

Натто (традиционная японская еда) готовят из сваренных соевых бобов, которые инкубируют с добавлением *Bacillus subtilis* в течение 1–2 дней. При этом бактериальные протеазы размягчают бобовую смесь и придают ей особый вкус.

Пой – сброженный пищевой продукт, который популярен на островах Полинезии. Для приготовления пой ветки и корни растения таро кипятят, размалывают и смесь подвергают брожению от 1 до 6 дней. В течение первых нескольких часов в бродильной массе развиваются энтеробактерии (колиформные), псевдомонады и другие микроорганизмы. Затем в результате сукцессионного процесса начинают доминировать представители *Lactobacillus*, *Lactococcus* и *Leuconostoc*. В конце процесса брожения развиваются дрожжи и гриб *Geotrichum candidum*. Продукты брожения, в основном молочная, уксусная и муравьиная кислоты, этанол и углекислота, приносят в готовый пой аромат, вкус и характерную консистенцию.

### 3.1.2. Микроорганизмы мяса и мясных продуктов

Мясо и мясопродукты, постоянно вступая в контакт с микроорганизмами, могут быстро портиться, если их не замораживать или не подвергать обработке. Внутренняя мясная мякоть здоровых животных обычно стерильна и заражается микробами только в результате соприкосновения с поверхностями или воздухом боен при обескровливании и разделке туш. В процессе разделки мясо контактирует с раз-

делочными поверхностями и инструментами. Провернутое мясо (фарш) и сосиски особенно подвержены действию микроорганизмов, поскольку резко увеличивается поверхность для колонизации и роста микробных клеток. Контаминация может быть снижена постоянной очисткой ножей, мясорубок и пил погружением их в горячую воду, однако это делается редко.

Мясо – идеальная питательная среда для микроорганизмов, так как оно богато белками и минералами, содержит достаточное количество воды и имеет благоприятный pH.

В аэробных условиях бактерии и дрожжи могут вызывать образование поверхностной слизи или плесени, изменение цвета мяса и его жиров, что приводит к появлению нежелательного вкуса и запаха. Поверхностная слизь может появляться в результате действия бактерий родов *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Leuconostoc*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* и *Streptococcus*. Аэробные грибы на поверхности мяса вызывают образование пятен. Эти пятна могут быть черными (*Cladosporium herbarum*), белыми (*Sporotrichum camis*) или зелеными (*Penicillium sp.*). Несмотря на то, что отдельные пятна на поверхности мяса могут быть вырезаны, порча быстро распространяется по поверхности и вызывает разрушение мяса. Как правило, свежее мясо окрашено в красный цвет (так называемый «румянец») пигментом миоглобином, который присутствует в мясе. Миоглобин имеет красный цвет в окисленном состоянии и коричневый – в восстановленной форме.

Бактерии *Lactobacillus* и *Leuconostoc* вызывают позеленение, появление коричневого или серого оттенка вследствие образования сероводорода и пероксидов, которые восстанавливают миоглобин. Многие бактерии и дрожжи, вызывающие порчу мяса, имеют липазы, которые гидролизуют ненасыщенные жирные кислоты жиров мяса. Эти жирные кислоты довольно быстро окисляются, что ведет к прогорканию мяса. Наиболее часто прогоркание жиров вызывают бактерии – представители родов *Achromobacter* и *Pseudomonas*. Прогоркание жиров сопровождается появлением нежелательного вкуса и запаха мяса. При прокисании мяса появляются специфические запахи и вкус, сопровождаемые образованием летучих жирных кислот (ацетат, формиат, бутират и пропионат) с участием бактерий, катаболизирующих белки и углеводы мяса.

**Гниение мяса** – это анаэробное разложение его белков с образованием сероводорода, индола, меркаптанов, аммиака, аминов и других

дурно пахнущих веществ. Гниение обычно вызывают представители рода *Clostridium*, однако некоторые факультативные анаэробные бактерии также способны вызывать гниение. Гнилостные процессы с участием клостридий сопровождаются образованием большого количества  $H_2$  и  $CO_2$ .

Для предотвращения порчи мяса разработано много способов его защиты. Как правило, порча мяса может быть значительно замедлена быстрым его охлаждением или замораживанием. Время хранения свежего мяса при температуре  $5\text{ }^\circ\text{C}$  не превышает 3–10 дней. В зависимости от начальной обсемененности мясо может храниться при  $0\text{ }^\circ\text{C}$  до 30 суток. Замораживание мяса не убивает психрофильные микроорганизмы (*Pseudomonas*, *Achromobacter* и *Flavobacterium*), однако существенно снижает их активность.

Хранение мяса при температуре  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  увеличивает период хранения до нескольких месяцев. Такое замораживание убивает множество бактерий, вызывающих порчу мяса, но некоторые из них переживают заморозку и могут начать расти, если процесс размораживания будет медленным. При заморозке мясо теряет свои органолептические свойства не в результате действия микроорганизмов, а из-за высыхания (называемого «морозильный ожог») и окисления. Такие потери могут быть сведены к минимуму тщательной упаковкой мяса до замораживания. Микробный рост замедлен в старом мясе (мясо, состарившееся при температуре морозильника в течение нескольких недель) при снижении относительной влажности камеры до 80–90 %.

Высушивание мяса для его сохранения известно уже несколько веков. Например, североамериканцы подвешивали полоски мяса на ветру для его подвяливания на солнце и получали вяленое мясо (типа пеммикана). Некоторые типы колбас также сохраняют, подвяливая их. В настоящее время лиофильная сушка мяса – популярный метод его сохранения без изменения запаха и вкуса. Высушенное мясо может храниться неограниченно долго без охлаждения. Высушивание резко снижает активность воды в мясе, что и препятствует росту микроорганизмов.

Обезвоживание применяют и для обработки мяса. В прошлом говядину и свинину засаливали для сохранения мяса без замораживания. В настоящее время наряду с поваренной солью используют и другие химические вещества для обезвоживания мяса (сахар, нитрат и нитрит натрия, иногда уксус). Сахарозу и поваренную соль применяют для

придания вкуса и снижения активности воды, например при изготовлении ветчины. Сахароза служит также источником энергии для нитратвосстанавливающих бактерий в обрабатываемом растворе. Нитрат подавляет развитие некоторых анаэробов, в том числе клостридии, а также приводит к образованию нитрита в результате нитратредукции, что усиливает «мясной» цвет мясопродуктов.

Нитраты и нитриты представляют собой эффективные консерванты, однако в последнее время их использование в обработке мяса ограничено, так как они могут реагировать со вторичными и третичными аминами, приводя к появлению нитрозаминов, которые чрезвычайно канцерогенны.

Многие мясопродукты коптят после обработки для большей сохранности и придания характерного вкуса. Температура процесса и химические вещества дыма вместе с уменьшением влажности продуктов снижают вероятность микробного роста на мясных изделиях. Один из идентифицированных ингредиентов дыма – формальдегид. Несмотря на низкие концентрации, он служит основным консервантом и бактерицидом древесного дыма.

Химические вещества широко использовали в прошлом для защиты мясных изделий от порчи, однако в последнее время в ряде стран их широкое применение запрещено. Для защиты мясопродуктов до сих пор используют бензоат натрия, пропионат кальция, борную и сорбиновую кислоты. Эти соединения имеют органическое происхождение (за исключением бората), они подавляют метаболизм микроорганизмов или нарушают проницаемость цитоплазматической мембраны (ЦПМ).

Для стерилизации мясопродуктов экспериментально применяли также ионизирующую радиацию, однако это оказалось непрактичным вследствие высокой стоимости и нежелательных изменений цвета и вкуса продуктов.

Мясо домашней птицы и морепродукты являются основными источниками белка в диете человека. Эти продукты легко загрязняются микроорганизмами в процессе обработки. При разделке птицы микробные клетки кожи, перьев, ног и кишечника легко попадают на мясо. Микроорганизмы, наиболее часто обнаруживаемые в мясе птицы, относятся к родам *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium* и *Micrococcus*.

Порчу мяса домашней птицы обычно вызывают представители родов *Pseudomonas*, хотя могут также участвовать и бактерии рода

*Achromobacter* и дрожжи. Быстрое охлаждение птицы после обработки останавливает порчу.

Для сохранения мяса птицы используют *антибиотики*, такие как хлор- и окситетрациклины, но в концентрациях, не превышающих 7 ррт. Антибиотики вносят на поверхность мяса или добавляют в корм птицы перед ее забоем. Ежегодно в США крупному рогатому скоту, птице и другим животным скармливают до 2,5 млн. килограммов антибиотических веществ. Установлено, что от 75 до 80 % скота и домашней птицы когда-либо получали антибиотики в течение откормочного периода. Несмотря на то, что антибиотики улучшают здоровье животных и снижают количество патогенов в их кишечнике, администрация США озабочена появлением устойчивых форм патогенных микроорганизмов.

Проблемы с антибиотикоустойчивостью начались в США в 1954 г., когда в Калифорнии был отмечен падеж молочного стада вследствие сальмонеллеза, вызванного устойчивыми к антибиотикам формами. Похожий случай был отмечен в 1983 г. на Среднем Западе, когда 18 человек заболели сальмонеллезом, вызванным устойчивым к тетрациклину штаммом, который был обнаружен в говядине. Позднее было показано, что все больные использовали фарш, приготовленный из зараженной говядины, причем животным в корм добавляли тетрациклиновые антибиотики.

### **3.1.3. Микроорганизмы рыбы и морепродуктов**

Состав микробиоты морепродуктов зависит от присутствующих в воде микроорганизмов. На поверхности рыбы обычно присутствуют бактерии родов *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Serratia*, *Vibrio*, *Sarcina*. Число клеток микроорганизмов на 1 см<sup>2</sup> свежевывловленной рыбы может колебаться от нескольких сотен до нескольких миллионов. Большинство этих микроорганизмов удаляется при промывке, однако оставшиеся быстро размножаются после разделки рыбы. Рыба представляет собой хороший субстрат для роста микроорганизмов, и в связи с этим необходимы специальные меры, чтобы этому препятствовать. Свежепойманная рыба должна быть быстро охлаждена на льду. Другие способы защиты от порчи включают засолку, высушивание, замораживание или высокотемпературную обработку.

Порча морепродуктов происходит путем автолиза, окисления или вследствие активности микроорганизмов. Когда ненасыщенные липиды рыбьего жира окисляются, выделяется триметиламин, который придает гниющей рыбе специфический неприятный запах. Бактерии, которые участвуют в порче рыбы, часто те же самые, что присутствуют в поверхностной слизи. При порче ферменты самой рыбы вызывают автолиз мышечной ткани, при этом выделяются нитросоединения (например, аминокислоты и амины), а также углеводы, используемые бактериями. Бактерии потребляют эти субстраты, образуя пахучие продукты, такие как амины, аммиак, альдегиды, сульфиды и индол. Например, устрицы обычно остаются свежими, пока находятся в раковинах и сохраняются на холоде. После вскрытия раковины процесс порчи существенно ускоряется.

### 3.1.4. Консервированная пища

*Консервы* известны с 1810 г., когда Николас Апперт (1750–1841) разработал способ сохранения продуктов на длительное время и получил премию в 12 тыс. франков от Наполеона Бонапарта, которому такие продукты нужны были для ведения завоевательных войн в Африке. Н. Апперт предложил хранить продукты после их продолжительного и сильного нагрева в запечатанных жестяных банках. А сначала консервы сохраняли в широкогорлых стеклянных банках с корковыми пробками.

С тех пор консервирование приобрело большую популярность и широко используется вплоть до наших дней.

Современные методы консервирования включают нагрев герметически закрытых продуктов при высоких температурах, достаточных для того, чтобы уничтожить все споры микроорганизмов. Способы нагрева и используемые температуры варьируют от 100 °С (для кислых консервов с рН ниже 4,0) до 121 °С (для консервов с рН выше 4,5). Национальная ассоциация консервов США рекомендует выбирать продолжительность процесса нагрева таким образом, чтобы первоначальное число спор *Clostridium botulinum*, составляющее  $10^{12}$  на 1 мл, было снижено до 1. Поскольку  $10^{12}$  спор на 1 мл – невероятно высокое значение, этот критерий позволяет надежно убить все возможные споры *C. botulinum* в банке. Для проверки качества нагрева в консервной промышленности обычно принято при обработке каждой партии консервов ставить тест-банки с внесенным определенным числом спор



*Bacillus stearothermophilus*, обладающих высокой термоустойчивостью: если в дальнейшем тест-банка оказывается нестерильной, то бракуют всю партию.

Современные методы консервирования высоконадежны, и от промышленных консервов очень редко можно получить отравления или заразиться. Большинство случаев отравлений токсином ботулизма связано с домашними заготовками, при недостаточном прогреве особенно низкокислотных продуктов (мясо, рыба, овощи и новые сорта томатов с низким содержанием кислот).

Рост большинства микроорганизмов в консервах сдерживает не только термообработка, но также удаление из банок воздуха и снижение уровня pH консервов. Если порча продукта в банке все же наступает, то это обычно вызвано образованием молекулярного водорода, который выделяется при действии кислот на металл банки, что может привести к бомбажу. Микробная порча консервов встречается редко, однако может наступать вследствие несоблюдения режима термообработки при автоклавировании или нарушений целостности упаковки.

При этом меняются цвет, текстура, запах и вкус продукта, образуются органические кислоты (лактат), ответственные за кислый запах, сульфиды и газы (в основном  $H_2$ ,  $CO_2$  и  $H_2S$ ). Банки раздуваются (бомбаж).

Спорообразующие бактерии родов *Bacillus* и *Clostridium* обычно развиваются в недостаточно прогретых консервах, в то время как неспорообразующие формы проникают в консервы через поврежденную упаковку. Иногда развитие анаэробных микроорганизмов рода *Clostridium* может приводить к образованию сильнейшего нейротоксина (*ботулина*), вызывающего в очень малых дозах сначала слепоту, а затем и смерть человека. Через испорченные продукты в организм могут попадать и сами болезнетворные микроорганизмы (например, бактерии кишечной группы).

Кислый запах и бомбаж, возникающие в результате микробного метаболизма, обычно становятся видимыми признаками испорченных консервов.

### **3.1.5. Использование дрожжей. Хлебопечение**

Микроорганизмы используются при хлебопечении с двумя следующими целями:

1) для образования большого количества  $\text{CO}_2$ , который поднимает опару;

2) для образования дополнительных продуктов брожений, которые придают специфический вкус и аромат определенным сортам хлеба.

При изготовлении хлеба применяют специальные дрожжевые закваски. Все они относятся к виду *Saccharomyces cerevisiae*, но для хлеба, пива, кваса, вина, спирта в настоящее время используют разные расы дрожжей.

Для хлебопечения используют закваски, не содержащие других микроорганизмов и активно растущие на глюкозе с обильным газообразованием. Опара поднимается в результате появления продуктов спиртового брожения, вызываемого *S. cerevisiae*, которые из углеводов опары в анаэробных условиях образуют этанол и углекислый газ ( $\text{CO}_2$ ), поднимающий тесто. При выпечке углекислота задерживается в тесте и формирует характерную пористую структуру хлеба. Этанол при выпечке испаряется, а дрожжи обычно погибают. И хотя дрожжи, образующие при спиртовом брожении побочные продукты, также вносят вклад во вкус хлеба, основными микроорганизмами, отвечающими за вкусовые качества специальных сортов хлеба, являются бактерии.

В настоящее время для некоторых специальных сортов хлеба в хлебные закваски включают добавки из пропионовокислых или молочнокислых бактерий. Например, резкий или кислый вкус рисового хлеба получается в результате развития в опаре гетероферментативных молочнокислых бактерий, таких как *Lactobacillus brevis* и *Leuconostoc mesenteroides*. Характерная консистенция и вкус традиционного русского черного хлеба возникают при добавлении к бродящей опаре, приготовленной на основе ржаной муки, готовых заквасок, содержащих наряду с пекарскими дрожжами чистые культуры гомоферментативных молочнокислых бактерий.

### **3.1.6. Микробиологические основы виноделия и пивоварения**

Дрожжи – основные действующие элементы в процессах приготовления алкогольсодержащих напитков (вино, пиво и квас). Такие продукты могут быть получены из различных растительных субстанций, которые содержат доступные углеводы.

Основные этапы приготовления вина следующие.

1. Отжим винограда (белые и красные сорта).

1а. Отделение отжимок (для белых и розовых вин).

2. Сбраживание суслу (дикими дрожжами) или предварительная пастеризация суслу и внесение специальных заквасок (*S. cerevisiae* var. *ellipsoides*). Брожение в течение 3–5 дней при температуре 20–28 °С. Конечная концентрация спирта должна находиться в пределах от 10 до 12 %.

3. Сепарирование, охлаждение.

4. Дображивание (яблочно-молочнокислое брожение под действием *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*). При этом кислотность вина снижается.

4а. Вторичное брожение (плюс сахар, под давлением для игристых вин, плюс спирт, на воздухе для хересных вин).

5. Выдержка (формирование окончательного вкуса и букета).

6. Розлив (иногда после купажирования).

Все вина подразделяются на сухие и сладкие. В сухих нет остаточных сахаров, а сладкие содержат разные количества свободного сахара. Содержание остаточного сахара определяется начальной концентрацией сахара в виноградном соке. Если взять начальное количество сахара больше, чем то, что может переработаться в алкоголь, то по достижении концентрации спирта критической величины (–12 %), ингибирующей рост дрожжей, брожение прекратится и еще останется несброженный сахар.

Существуют различные дополнения и модификации этого процесса. Например, для получения сладких десертных вин используют виноград, зараженный грибом *Botrytis cinerea*, обезвоженный, с повышенным содержанием сахара. Сок из него сбраживают специальными дрожжами, которые быстро перерабатывают глюкозу и не используют фруктозу, чем и обусловлена повышенная сахаристость такого вина.

В настоящее время увеличилось число сортов вин с внесением различных ароматических добавок, с принудительным нагнетанием CO<sub>2</sub> (игристые вина), с дополнительным внесением спирта (крепленые вина).

В приготовлении пива используют зерновые субстраты, содержащие много крахмала. Для образования спирта необходимы сахара, которые должны быть получены из крахмала путем гидролиза.

Наиболее распространенным сырьем для пива являются ячмень, рис и кукуруза.

Для Европы традиционно использование ячменя в соответствии с нижеприведенной схемой.

1. Замачивание и проращивание ячменя (получение солода с активированием амилаз).

2. Сушка солода (чем выше температура сушки – 110, 120 или 140 °С, тем темнее солод).

3. Размол солода и добавление к основной массе ячменя (–15 %).

4. Варка сусла (замачивание, осахаривание крахмала, добавление хмеля, кипячение).

5. Охлаждение, фильтрация и внесение дрожжей (специально отобранные пивные дрожжи *S. cerevisiae* var. *carlsbergensis* низового брожения – для лагерных сортов пива, верхового брожения – для крепких сортов пива типа эля).

6. Брожение (при температуре 12 °С – 7–10 дней, при 18 °С – 3–4 дня для эля).

7. Фильтрация, перегонка в танк на дображивание при температуре 4 °С от 7 до 60 дней (для лагерных сортов).

8. Розлив, «консервирование» (пастеризация, фильтрация, внесение бензоата, низина).

Для приготовления эля используют сусло более плотное и применяют верховые дрожжи, бродящие при более высокой температуре (18 °С) значительно быстрее и с обильным газовыделением. Пиво получается крепче, а дрожжи при брожении выносятся на поверхность в «шапку» пива.

На Востоке сырьем для алкогольсодержащих напитков (например, сакэ) служит рис, и тогда для гидролиза крахмала используется микробиологическая стадия – гриб *Aspergillus oryzae*, образующий амилазы.

При этом происходит осахаривание и начинается спиртовое брожение, вызываемое *S. cerevisiae* var. *sake*. Брожение при изготовлении сакэ длится до 1 месяца, и конечная концентрация спирта в продукте может достигать до 18 %.

Американские индейцы, изготавливая алкогольные напитки из зерен кукурузы, используют собственную слюну, содержащую амилазы.

Более крепкие напитки получают отгонкой спирта из вина или пива, они отличаются начальным субстратом и модификацией послеот-

гоночных операций. Например, водку получают дистилляцией спирта после сбраживания крахмала ржи, пшеницы, картофеля; кукурузный виски (бурбон) – отгонкой спирта после сбраживания кукурузы; коньяк и бренди – выдерживанием отогнанного виноградного спирта в дубовых бочках; шотландский виски – дистилляцией неохмеленной ячменной бражки.

Разные виды крепких напитков отличаются по вносимым добавкам (например, джин – это водка из спирта, настоянного на ягодах можжевельника, ликеры содержат большое количество сахара и натуральные или синтетические ароматизаторы и т. д.).

Производство спирта может быть основано на использовании не только пищевых субстратов и отходов пищевых производств, но и технического сырья, способного подвергаться гидролизу, в том числе неферментативному, с образованием сахаров (например, на древесных опилках).

**Использование уксуснокислых бактерий.** Получение уксуса основано на способности уксуснокислых бактерий рода *Gluconobacter* неполностью окислять этанол в ацетат. Бактерии рода *Acetobacter* не используют, так как у них замкнутый ЦТК и они «переокисляют» ацетат до  $H_2O$  и  $CO_2$ . Промышленный процесс проходит в колонне с бумажными стружками, на которых закреплены клетки бактерий и через которые идет противоток кислорода и спирта.

По типу субстрата, из которого получают уксус, он делится на столовый (из спирта), яблочный, виноградный (из соответствующих вин).

### 3.2. Микробиология кормов

Для скармливания скоту растительный материал сохраняют с помощью молочнокислого брожения. Такой материал под общим названием «силос» режут, подсушивают и закладывают в силосные башни, наземные хранилища или в силосные ямы для создания анаэробных условий.

Искусство приготовления силоса как способ сохранения сочных кормов было известно тысячи лет, хотя сложные биохимические и микробиологические изменения, которые происходят при процессах силосования, стали понятны сравнительно недавно.

Приготовление *силоса* связано со спонтанно возникающим молочнокислым брожением растительного материала (трава, сочные корма, а

также капуста, огурцы и помидоры), вызванным природными популяциями микроорганизмов, ассоциированных с наземными частями растений. Образующая молочнокислыми бактериями молочная кислота снижает pH и служит природным консервантом. После силосования корма могут храниться довольно долго, но, как правило, их хранят до следующего урожая.

Скошенную траву или сочные корма, приготовленные для силосования, измельчают и прессуют. Материалы, из которых получается хороший силос, богаты углеводами и содержат относительно немного белка и воды. Зеленая масса кукурузы, большинства зерновых, подсолнечника и турнепса дает самый хороший силос. Медоносные травы, клевер, сено обычно силосовать труднее, а вика и горох силосованию не подвергаются.

В начале периода силосования энтеробактерии и аэробы потребляют весь кислород в заквашиваемом материале, затем наступает этап преимущественного развития гомоферментативных лактобацилл, стрептококков и лактококков, а также лейконостока, которые становятся доминирующими, образуют молочную кислоту и снижают уровень pH до 4,0.

Силос может быть испорчен развитием бактерий *Clostridium butyricum*, которые превращают лактат в масляную кислоту, придающую корму неприятный вкус и запах. Силос становится несъедобным для животных. Росту этого микроорганизма препятствует низкое значение pH (ниже 4,5).

На более поздних стадиях силосования преобладают *Lactobacillus plantarum*, *L. fermentum* и *L. brevis*.

Качественный силос имеет pH 3,7, высокую концентрацию молочной кислоты (до 72 г/кг) и низкую – масляной кислоты (не более 0,12 г/кг).

Хранить силос необходимо в условиях, не допускающих попадания в него кислорода.

Производство сенажа – самый рациональный способ использования трав при их заготовке для кормления сельскохозяйственных животных. Для приготовления сенажа пригодны любые травы, которые можно убирать после провяливания с одновременным их измельчением. Высококачественный сенаж получают из бобовых трав, скошенных в фазе бутонизации, а из злаковых – в начале колошения.

Производство *сенажа* отличается тем, что брожению подвергается подсушенная растительная масса (влажностью 50–65 %). Несмотря на довольно высокое значение pH (около 5,0) гнилостные процессы происходят очень медленно, а процесс молочнокислого брожения активизируется, так как эта группа микроорганизмов из рода *Lactobacillus* характеризуется большей устойчивостью к понижению активности воды. В качестве продуктов брожения образуются умеренные количества молочной и уксусной кислот.

### 3.3. Использование биомассы микроорганизмов

Благодаря тому, что микроорганизмы быстро растут и содержат в клетках все необходимые питательные элементы, они сами могут быть источником пищи для человека и животных, а также добавками к основной диете.

В качестве примеров можно привести белково-витаминный комплекс (БВК), биомассу хлореллы в замкнутых системах жизнеобеспечения, пекарские и кормовые дрожжи, биологически активную добавку (БАД) «Сплат» на основе *Spirulina platensis*.

Развитие микробиологического производства *пищевого (кормового) белка* сдерживается отсутствием дешевого и безопасного для роста сырья. Это могут быть либо отходы пищевых производств, либо керосиновые фракции нефти, природный газ или метанол.

Основными группами микроорганизмов, биомасса которых рассматривается как корм для животных, являются дрожжи, плесневые грибы, метилотрофные и водородные микроорганизмы, цианобактерии и микроводоросли. Пока же соевый белок обходится дешевле и он более привычен.

### 3.4. Непищевые микробиологические процессы переработки растительного сырья

**Мочка волокнистых растений.** Целлюлозные волокна льна, джута, конопли и других видов отделяют друг от друга путем микробного разложения пектина. В основном используют водный способ, при котором стебли растений погружают в чаны с водой для набухания и экстракции водорастворимых веществ. На первой стадии процесса

размножаются аэробные микроорганизмы, которые используют кислород и легкоусваиваемые соединения, растворенные в воде. На поверхности жидкости в чане, как правило, развиваются дрожжи и плесневые грибы. После исчерпания кислорода в воде начинается размножение факультативно анаэробных бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, осуществляющих смешанное брожение с образованием смеси органических кислот и газов.

На основной стадии процесса мочки развивающиеся анаэробные бактерии рода *Clostridium* синтезируют гидролазы, расщепляют пектин, при этом доминирующий вид *C. pectinovorum* постепенно замещается на более кислотоустойчивый *C. felsineum*. Мочку выполняют при температуре 32–38 °С в течение 3–5 суток. Иногда для ускорения процесса в чан вносят споры пектинолитического микроорганизма *C. felsineum*.

При аэробной мочке льна и других растений практикуют предварительный гидролиз пектиновых веществ до смеси летучих жирных кислот, сахаров, метанола и галактурановых кислот аэробными микроорганизмами, а затем полное окисление этих соединений бактериями и грибами.

**Биоконверсия растительного сырья и отходов сельского хозяйства в биогаз и растворители.** Микробиологическая конверсия растительного сырья – наиболее эффективный способ переработки целлюлозо- и крахмалсодержащих сельскохозяйственных продуктов и отходов в полезные субстанции.

При этом решается ряд задач по переходу к безотходным технологиям и, в частности, проблемы малой энергетики и использования новых возобновляемых энергоресурсов, а также защиты окружающей среды.

Спирты (в основном этанол) относятся к традиционным энергосоединениям, которые получают с помощью микроорганизмов.

Производство спирта основывается на использовании не только пищевых субстратов и отходов пищевых производств, но и технического сырья, способного подвергаться гидролизу, в том числе неферментативному, с образованием сахаров (например, на древесных опилках).

С помощью термофильных анаэробных бактерий ускоряется процесс биоконверсии, а также исключается стадия предварительного гидролиза сырья, так как эти микроорганизмы способны сами проду-



цировать мощные гидролазы. Таким образом, становится возможной непосредственная переработка растительного сырья сразу в этанол. Повышение активности и стабильности процесса получения спирта из растительной массы может быть достигнуто путем применения устойчивых микробных ассоциаций.

Конверсия сельскохозяйственных отходов в биогаз осуществляется в анаэробных условиях под действием естественно сложившихся метаногенных микробных сообществ. Такие микробные сообщества основаны на синтрофных взаимодействиях микроорганизмов разных систематических и физиологических групп, осуществляющих межвидовой перенос интермедиатов (водорода, ацетата, формиата).

Процесс начинается с гидролиза биополимеров растительного сырья и отходов внеклеточными ферментами бактерий рода *Clostridium*. Далее продукты гидролиза подвергаются брожениям разных типов под действием микроорганизмов следующих семейств: *Clostridiaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Lactobacillaceae*, *Streptococcaceae*, в результате чего образуется смесь летучих жирных кислот, спиртов и газов. Далее следует синтрофная стадия, на которой продукты брожения используются бактериями родов *Syntrophomonas* и *Syntrophobacter* с образованием субстратов метаногенеза ( $H_2$ ,  $CO_2$  и ацетата). Завершающая стадия процесса приводит к образованию метаногенными археями биогаза.

Биоконверсию отходов сельского хозяйства в биогаз проводят в метантенках при температуре 54–56 °С, что не только ускоряет процесс, но и способствует также обеззараживанию перерабатываемых отходов.

### 3.5. Порча пищевых продуктов

Приготовление и консервирование пищи с помощью микробов и порча пищевых продуктов – это две стороны одного процесса. Здесь важно, в какую сторону будут развиваться микробные сообщества, всегда присутствующие в самом продукте или в окружающей его среде.

Пищевые продукты – очень хорошая питательная среда для разных микроорганизмов, при этом микробный рост отражается как на качестве самого продукта, так и на здоровье потребляющего его человека. Загрязнение продукта болезнетворными микробами может привести к заражению человека.

Сколько времени существует человечество, столько времени оно борется с порчей пищевых продуктов. Сначала использовали такой способ, как засолка, для консервирования мяса и рыбы, приготовление сыров и кисломолочных продуктов. Копчение мяса и рыбы применяют до настоящего времени, хотя сначала это делали интуитивно.

В 1857 г. Л. Пастер открыл новую эру в пищевой микробиологии, доказав, что именно микроорганизмы вызывают порчу продуктов. Его работы послужили началом изучения повреждения и сохранения пищевых продуктов на научной основе. Л. Пастер предложил использовать нагревание как фактор, предупреждающий развитие микробов в продукте (*пастеризация*).

**Факторы, влияющие на процесс порчи продуктов.** Будет ли портиться продукт и насколько быстро это произойдет, определяется широким разнообразием внешних и внутренних условий. Внутренние, присущие тому или иному виду продукта факторы включают уровень pH, влажность, доступность воды, окислительно-восстановительный потенциал, структуру продукта, содержание питательных веществ и возможное присутствие природных антимикробных агентов. Из внешних факторов наиболее важные – это температура, относительная влажность воздуха, присутствие газов ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{O}_2$ ), тип и количество микроорганизмов.

В зависимости от состава питательных веществ в продукте развиваются те или иные процессы, приводящие к его порче и изменению его свойств, а также к преимущественному заселению той или иной группой микроорганизмов.

Такие продукты, как хлеб, варенье и некоторые фрукты, в первую очередь поражаются грибами.

Продукты, содержащие большое количество белка и (или) жиров (например, мясо или масло), подвергаются прежде всего действию бактерий.

Порча обычно приводит к возникновению неприятных запахов, за которые ответственны амины типа кадаверина («трупный яд») и путресцина («гниющий»).

Низкий уровень pH продукта вызывает развитие дрожжей и плесеней, нейтральный и щелочной – бактерий.

Минимально обработанные натуральные замороженные цитрусовые продукты обычно поражаются *Lactobacillus* и *Leuconostoc*, которые образуют диацетил и дают горький привкус.

Разведенные фруктовые соки заселяются дрожжами родов *Saccharomyces* и *Candida*. Иногда соки пастеризуют, но органолептические свойства их при этом могут ухудшаться.

Наличие и доступность воды также влияет на способность микроорганизмов колонизировать продукт. Простейшие способы preservation продукта от заражения – это сушка, копчение, вяление, а также внесение больших количеств поваренной соли и сахара. При приготовлении мясных продуктов, в частности бульонов, часто снижается окислительно-восстановительный потенциал. Такие продукты, содержащие доступные аминокислоты, пептиды и факторы роста, представляют собой идеальную среду для роста анаэробов, включая клостридий.

Физическая структура пищи в значительной степени влияет на процесс порчи продукта. Измельчение, нарезание и смешивание пищи, например в соусах, салатах, котлетах, не только увеличивают поверхность пищи и меняют ее клеточную структуру, но также способствуют внесению извне дополнительных микробов и распределению их в толще продукта. Это ускоряет порчу и снижает сроки хранения продукта.

Из натуральных *антимикробных агентов* можно назвать кумарин, содержащийся в овощах и фруктах, лизоцим – в яйцах, фитонциды – в луках, жгучие вещества – в острых приправах, полифенолы – в черном и зеленом чае.

Высокая относительная влажность окружающего воздуха способствует быстрому микробному росту даже при пониженных температурах. Важна атмосфера, в которой хранится пища. CO<sub>2</sub> может понижать pH растворов, ингибируя микробный рост. Хранение мяса при высоком содержании углекислого газа замедляет рост грамотрицательных бактерий.

**Хранение плодов и овощей.** Здоровые неповрежденные семена, овощи и плоды несут на своей поверхности эпифитную микробиоту, которая препятствует колонизации их нежелательными микроорганизмами. Обсемененность зерна, плодов и овощей в большой степени зависит от загрязнения во время сбора и подготовки их к хранению, а также от температуры и влажности воздуха, поддерживаемых в хранилищах. На степень колонизации микроорганизмами этих объектов влияют и морфологические особенности: например, шероховатые плоды, имеющие неровную поверхность и механические повреждения,

которые несут существенно больше микроорганизмов, чем целые плоды, с гладкой оболочкой.

Микроорганизмы, обнаруживаемые на поверхности семян, плодов и овощей, относятся к родам *Arthrobacter*, *Agrobacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*; представители родов *Bacillus*, *Clostridium* и *Streptomyces* встречаются в незначительных количествах; а грибы, относящиеся к родам *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichothecium*, *Phytophthora* и некоторым другим, присутствуют в основном в форме спор.

Для предохранения семян от порчи применяют протравливание различными биоцидами, гидрофобизацию (покрытие семян нерастворимой пленкой, содержащей пестициды и пропускающей воздух и воду), а также стимуляцию эпифитной микробиоты питательными растворами.

В спелом здоровом зерне вода находится в состоянии, недоступном для микроорганизмов. Размножение разных групп микроорганизмов начинается при нарушении режима хранения, причем для зерна каждого типа отмечены свои пороговые значения температуры и влажности окружающего воздуха, по достижении которых становится возможен микробный рост.

В качестве примеров порчи зерна можно привести многочисленные случаи, когда на влажном зерне и продуктах из него вырастают плесени, в основном относящиеся к родам *Penicillium* и *Aspergillus*. Бактериальные виды представлены микрококками, грамотрицательными неспоровыми палочками, а при повышенной температуре – бациллами. Результатом микробной жизнедеятельности является существенное разогревание зерновой массы.

Заражение зерна аскомицетом *Claviceps purpurea* вызывает эрготизм за счет отравления галлюциногенными алкалоидами этого гриба, которые приводят к изменению поведения человека и животных, абортam и смерти.

Канцерогенными свойствами обладают продукты других грибов – афлатоксины (*Aspergillus flavus*) и фумонизины (*Fusarium spp.*). Такие грибы могут развиваться также на арахисе, в молоке, пиве, какао, на изюме и сое. Отравления животных заплесневелыми кормами вызывают и другие виды грибов. Их споры также опасны для животных и человека, так как приводят к развитию инфекционных и аллергических заболеваний.

Большинство фруктов и овощей портится иначе. Начальный этап порчи связан скорее с плесневыми грибами, ферменты которых разрушают оболочки (кожицу) овощей и фруктов и проникают внутрь плода.

Нарушение целостности поверхностных оболочек фруктов и овощей приводит к ускорению колонизации другими микроорганизмами. Углеводы легко расщепляются бактериями, особенно вызывающими «мягкие гнили», например *Erwinia carotovora*, образующей гидролазы. Высокий окислительно-восстановительный потенциал способствует развитию аэробов и факультативных анаэробов.

**Методы защиты продуктов от порчи.** Выбирают и используют определенные методы защиты исходя из свойств самого продукта, свойств организмов, поражающих его, и стоимости.

Из воды, вин, пива, соков, напитков и других жидкостей микроорганизмы могут быть удалены *фильтрацией*, при этом физические и вкусовые качества продукта не изменяются.

Задерживают микробный рост *снижение температуры* или *замораживание*. При этом нельзя забывать о том, что преимущества в росте получают психрофильные микроорганизмы, которые также портят продукты.

Использование повышенных температур может быть в двух модификациях – это *пастеризация* (нагревание до температуры менее 100 °С, избавляющее от вегетативных клеток) и *стерилизация* (нагревание при повышенном давлении до температуры выше 100 °С, избавляющее от всех форм живых организмов).

В настоящее время применяют также *лиофилизацию* продуктов (высушивание в замороженном состоянии под вакуумом), что позволяет существенно увеличить сроки их хранения.

Химические агенты, предотвращающие порчу пищевых продуктов, относятся к простым органическим кислотам, сульфитам, окиси этилена, нитритам и этилформиату. Каждый из них действует на какую-нибудь мишень в клетке, разрушая ее (например, цитоплазматическую мембрану). Эффективность этих веществ зависит от pH продукта. Например, лактат и пропионат лучше действуют при пониженном уровне pH, когда они находятся преимущественно в недиссоциированной форме.

В последнее время большой популярностью стал пользоваться антибиотик *низин*, образуемый молочнокислыми кокками. Это полипеп-

тидный нетоксичный антибиотик, влияющий в основном на грамположительные бактерии, точнее на проницаемость их цитоплазматической мембраны.

*Радиацию* применяют для контроля популяции микроорганизмов в продуктах питания в двух видах: ультрафиолет убивает микробы на поверхности, а  $\gamma$ -излучение – внутри.

### 3.6. Болезнетворные микроорганизмы

Необходимо иметь в виду, что развитие болезни – это обоюдный процесс, в котором не последнюю роль играет подвергшийся инфицированию макроорганизм. Болезнетворные микроорганизмы имеются среди вирусов, бактерий, грибов и простейших. Инфекционный агент, как правило, определяют по стандартной схеме с использованием дифференциально-диагностических сред и биохимических тестов. Сейчас эта идентификация упрощена, так как разработаны тест-наборы для экспресс-методов, а также выпускаются готовые индикаторные среды.

Болезнетворные микроорганизмы обладают свойством вызывать болезнь – *патогенностью*.

Основными факторами патогенности являются:

- факторы адгезии, обеспечивающие прикрепление к клеткам макроорганизма;
- факторы колонизации, способствующие размножению и расселению на поверхности клетки-хозяина;
- факторы инвазии, позволяющие проникать внутрь клетки;
- защитные факторы, уменьшающие фагоцитоз и обеспечивающие молекулярную мимикрию;
- факторы агрессии (ферменты, токсины), разрушающие иммунную систему хозяина и ослабляющие макроорганизм.

Степень патогенности называется *вирулентностью*, а антагонистические взаимоотношения паразита и хозяина – *инфекцией*. Система, обеспечивающая устойчивость макроорганизма к агрессии паразита, носит название *иммунитета*.

Человечество научилось успешно бороться со многими инфекционными заболеваниями, однако микроорганизмы также видоизменяются под действием факторов окружающей среды и под прессингом лечебных препаратов.

Возникла *множественная лекарственная устойчивость*, и многие «побежденные», казалось, безвредные микробы появились вновь в другой, более опасной форме (примеры – *Mycobacterium tuberculosis*, *Bacillus anthracis*, вирус черной оспы).

В настоящее время возникли и совершенно новые, неизвестные ранее смертельные инфекции (например, СПИД, птичий грипп и т. д.). У людей наблюдается заметное снижение иммунного статуса из-за неблагоприятных условий внешней среды, некачественного питания и нервных стрессов.

### **3.7. Микробиологические процессы получения биопрепаратов для сельского хозяйства**

**Вещества микробного происхождения для диагностики и лечения заболеваний.** К соединениям, получаемым с помощью микроорганизмов и используемым для диагностики и лечения различных заболеваний, относятся *антибиотики*, а также различные *антимикробные агенты* (вакцины, сыворотки, антитела, интерферон, многие ферменты и т. д.).

В качестве продуцентов используют как микроорганизмы, выделенные из естественных мест, так и мутанты и искусственно «конструированные» штаммы. Некоторые процессы чисто микробиологические, а некоторые включают микробиологический этап только как одну из фаз производства (яркий пример – трансформация с помощью микробов молекул стероидов).

Для получения вакцин, сывороток и препаратов для животноводства и сельского хозяйства употребляются как живые, ослабленные или видоизмененные возбудители, так и убитые клетки либо их отдельные части (антигены), которые вводят во время прививки в здоровый организм, чтобы с профилактической целью научить его вырабатывать антитела.

*Вакцина* представляет собой собственно возбудитель (антиген), а *сыворотка* – это полученные на антиген готовые антитела, вводимые уже заболевшему человеку или животному для быстрого ответа на инфекцию.

Сравнительно новое направление в ветеринарии – использование так называемых *пробиотиков*, т. е. культур микроорганизмов, «дружественных» высшим животным. Такие препараты, чаще всего содержа-

щие молочнокислые бактерии, применяют для профилактики и лечения желудочно-кишечных заболеваний разной этиологии. Исследования показывают, что молочнокислые микроорганизмы ингибируют развитие нежелательных бактерий в желудочно-кишечном тракте путем образования молочной кислоты и выработки ряда антибактериальных веществ (низин, бактериоцины), а также препятствуя колонизации эпителия кишечника гнилостными и патогенными микроорганизмами. Молочнокислые бактерии помогают поддерживать переваривание пищи и способствуют нейтрализации токсических веществ, образуемых некоторыми представителями микробиоты кишечника.

Эти свойства наиболее выражены у представителей родов *Lactobacillus* (*Lb. Acidophilus*, *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus*), *Lactococcus* (*Lc. lactis subsp. lactis*), *Bifidobacterium* (*B. bifidum*). Штаммы микроорганизмов, используемые для биопрепаратов, должны не только стабильно и активно вырабатывать молочную кислоту и антибактериальные метаболиты, но и обладать значительной жизнеспособностью.

Несколько другую стратегию применяют для *защиты сельскохозяйственных растений*. Микроорганизмы-антагонисты фитопатогенных грибов либо вносят в почву, либо обрабатывают ими семена и корни высаживаемых растений. Хорошие результаты показывают препараты на основе бактерий рода *Pseudomonas*, *Azotobacter*, грибов рода *Trichoderma*. Однако проблема заключается в том, что в лабораторных условиях и в природной обстановке активность таких препаратов существенно различается, так как, попадая в почву, интродуцированные микроорганизмы поневоле вступают в самые разнообразные отношения с резидентной микробиотой почвы.

В настоящее время бурно развивается направление по борьбе с вредителями сельского хозяйства биологическими методами. Микробиологическая часть этих методов включает применение бактерий и грибов, вырабатывающих *энтомопатогенные субстанции* (например, белковые кристаллы *Bacillus thuringiensis*), и заражение микробами – возбудителями инфекционных болезней насекомых и грызунов, не опасными для других членов экосистемы и человека.

**Получение индивидуальных веществ микробиологическим способом.** Микробиологические процессы играют огромную роль при получении индивидуальных веществ разного назначения. Ряд таких соединений может быть использован в качестве кормовых добавок, улучшающих структуру и усвоение кормов.



Гиббереллины, полученные микробиологическим путем из продуктов жизнедеятельности фузариозных грибов (*Fusarium*), успешно применяют в сельском хозяйстве для стимуляции роста растений, особенно винограда. Исследования последнего времени показывают перспективность изучения ризосферных микроорганизмов как продуцентов ряда фитогормонов.

**Микробные препараты для земледелия.** Биопрепараты комплексного действия на основе микроорганизмов рассматриваются как альтернатива различным химическим препаратам (минеральным удобрениям, пестицидам и т. д.).

Во многих странах для предпосевной обработки семян бобовых растений используют препараты *клубеньковых бактерий*. Этот прием является наиболее эффективным в случае внедрения новых культур бобовых на вновь осваиваемых посевных площадях, так как он позволяет обеспечить тесный контакт потенциальных симбионтов, быстрое образование клубеньков и эффективную симбиотическую азотфиксацию.

Обработка семян препаратами для посева давно возделываемых бобовых культур на прежних посевных площадях также дает прибавку к урожаю за счет обеспечения контакта растения с высокоактивными видоспецифичными штаммами клубеньковых бактерий.

Применение таких биопрепаратов позволяет не только снизить дозы минеральных азотных удобрений, но и положительно влияет на качество урожая бобовых, повышая содержание белка и витаминов в зерне.

Препараты на основе клубеньковых бактерий имеют разные названия (нитрагин, нитразон, ризоторфин и др.), и при их приготовлении используют стерильные или нестерильные носители (почва, торф), содержащие необходимые питательные вещества. В них вносят суспензию клубеньковых бактерий, иногда выдерживают препарат в термостате для подращивания культуры, а затем фасуют в тару различного объема. Перед посевом препарат разводят водой и обрабатывают им семена.

Использование в качестве биопрепаратов культур микроорганизмов *ризиферы* и *ризопланы* обусловлено не только их способностью к ассоциативной азотфиксации, но и выработкой биологически активных по отношению к растениям веществ (стимуляторов роста, витаминов,

антибиотических соединений, действующих на фитопатогенные микроорганизмы).

Для приготовления препаратов используют чистые или смешанные культуры представителей следующих родов: *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas* и др. Водной суспензией препарата обрабатывают поверхность семян либо корневую систему растений.

Как правило, положительные стабильные результаты применение препаратов дает на хорошо окультуренных, богатых органикой почвах (в теплицах, оранжереях).

В настоящее время предлагается широкий спектр биопрепаратов под разными названиями и на основе разных микроорганизмов (азотобактерин, азоризин, агрофил, мизорин, ризоагрин, псевдобактерин и т. д.).

Цианобактериальные препараты применяют в ряде стран на обводненных и затопляемых почвах, например при выращивании риса. Массу цианобактерий получают в специальных бассейнах, внося в них маточную культуру (обычно это представители родов *Anabaena* и *Nostoc*).

В некоторых странах Азии в качестве «зеленого удобрения» используют водный папоротник азоллу, на листьях которого находится симбиотический диазотроф *Anabaena azollae*. Размножают растение в небольших водоемах, а потом запахивают в почву рисовников либо переносят на поверхность воды рисовых полей. Отмирающая масса папоротника минерализуется, и соединения азота становятся доступными для растений риса.

Ряд биопрепаратов применяют для активизации микробиологических процессов в почвах. Это, например, фосфобактерин на основе спор *Bacillus megaterium*, повышающий доступность фосфора для растений; бактогумин, содержащий смешанную культуру микроорганизмов разных физиологических групп, для изготовления биологически активных грунтов; комплексные биопрепараты почвенных бактерий под овощные и плодовые культуры в основном в защищенном грунте и т. д.

### 3.7.1. Роль микроорганизмов при получении органических удобрений. Компостирование

Органические удобрения, наиболее активно используемые в сельском хозяйстве, – это навоз, компост и резка соломы.

Навоз в значительных количествах образуется в животноводческих хозяйствах и применяется как органическое удобрение либо в свежем виде, либо после хранения. Использование свежего навоза практикуется на высокотехнологичных сельскохозяйственных предприятиях с интенсивными методами земледелия.

Переход на экологически безопасные удобрения, а также отсутствие площадей для хранения навоза диктует необходимость применения этого удобрения непосредственно «из-под скота» путем гидро-смыва («жидкий навоз»).

Содержание сухих веществ в таком навозе близко к обычному, а вода составляет 90–98 %.

Свежий навоз содержит значительное количество микроорганизмов, ассоциированных с желудочно-кишечным трактом сельскохозяйственных животных. Доминируют кокки, участвующие в начальных стадиях процесса гниения, много неспоровых палочек, относящихся к энтеробактериям и псевдомонадам, осуществляющим аммонификацию. Среди спорообразующих бактерий преобладают бациллы – *Bacillus subtilis*, *B. megaterium*, *B. mycoides* и др. Существенное место занимают представители родов *Cytophaga*, *Cellvibrio* и *Clostridium*, способных разлагать целлюлозу. В навозе присутствуют микроорганизмы с разными температурными оптимумами роста, нитрификаторы и денитрификаторы. При внесении «жидкого навоза» в почву активизируются как аборигенная почвенная микробиота, так и микроорганизмы самого навоза.

Проблема применения такого вида удобрения заключается в возможном присутствии в свежем навозе патогенных микроорганизмов, способных попадать на сельскохозяйственные растения, использование которых в свежем виде (например, зелень, овощи и фрукты) приводит к серьезным пищевым отравлениям и инфекционным заболеваниям человека.

Активность и длительность микробных процессов в навозе зависит от условий и способа его хранения. При холодном способе хранения навоз уплотняют в изолированных от воздуха забетонированных помещениях, где поддерживают температуру не выше 40 °С. В этом слу-

чае микробиологические процессы протекают медленно, развиваются неспорообразующие мезофильные бактерии-сапротрофы, преимущественно из группы кишечной палочки, и псевдомонады. Количество кокков в навозе постепенно уменьшается, незначительна численность бацилл и актиномицетов. Грибы представляются минорной группой. Преимущественно в верхнем слое навоза активизируются процессы аммонификации, распада мочевины, нитрификации, разрушения целлюлозы.

При горячем способе навоз укладывают в хранилище постепенно, слоями. Каждый новый слой выдерживают в течение 2–4 дней в рыхлом состоянии, при этом температура навоза поднимается до 60–70 °С, после чего этот слой уплотняют и на него укладывают следующий. Скорость микробиологических процессов при таком способе хранения навоза увеличивается. На начальной стадии отмечается усиленный рост аэробных мезофильных неспоровых бактерий, грибов и актиномицетов. После исчерпания кислорода и подъема температуры преимущество получают грамположительные термофильные и термотолерантные спорообразующие бактерии родов *Bacillus* и *Clostridium*, мезофильные микроорганизмы отмирают или переходят в покоящиеся формы. При хранении азотсодержащие органические и неорганические соединения постепенно превращаются в аммиак, который при повышенной температуре из навоза улетучивается. Азот теряется также в процессах нитрификации и денитрификации. Для уменьшения потерь азота в массу вносят различные поглотители аммиака (торф, гипс и т. д.). При созревании навоза растительные остатки превращаются в гумус, медленно минерализующийся в почве и обеспечивающий длительное последствие на сельскохозяйственные культуры. При разложении полисахаридов навоза (целлюлозы, пектина и др.) и сбраживании образовавшихся соединений углерод теряется в виде газов, а соотношение С : N уменьшается. Содержание сухого вещества в навозе при созревании снижается на 20–40 %.

В традиционном земледелии большинство органических остатков превращается в органические удобрения в результате *компостирования*.

**Компостирование** – это увеличение скорости природной минерализации отмершего органического вещества. В настоящее время компостирование завоевывает все большую популярность в развитых странах как альтернатива промышленным и бытовым свалкам больших городов.

Органические и неорганические отходы независимо от источника получения характеризуются следующими показателями.

1. *Химическое потребление кислорода* (ХПК) – определяется как число кислородных эквивалентов, требуемое для полного окисления вещества до  $\text{CO}_2$ . Измеряется в миллиграммах на литр (мг/л) по реакции химического окисления чаще всего бихроматом калия в концентрированной серной кислоте при температуре  $160^\circ\text{C}$ . Для органических веществ значение ХПК в сточных водах приблизительно равно их концентрации.

2. *Биологическое потребление кислорода* (БПК) – количество кислородных эквивалентов, необходимое для окисления вещества до  $\text{CO}_2$  микроорганизмами активного ила при температуре  $25^\circ\text{C}$  за определенный промежуток времени. Измеряется также в миллиграммах на литр (мг/л).

*Компостирование способствует:*

- 1) уменьшению объема отходов;
- 2) снижению БПК отходов;
- 3) улучшению их физических характеристик, что позволяет складировать отходы компактнее;
- 4) уменьшению количества патогенов растений, животных и человека, а также семян сорняков;
- 5) сокращению площадей, отчуждаемых под полигоны для свалок отходов.

При компостировании сначала отделяют биodeградебельную часть отходов от не перерабатываемой микроорганизмами (пластик, металл, стекло). Оставшуюся часть органических отходов смешивают с порцией старого компоста («посевной материал») и с органическими веществами, которые перерабатываются медленно (щепа, нарезанная бумага, подсолнечниковая шелуха), для создания рыхлой структуры и более вентилируемых поверхностей компоста.

Компостирование осуществляют в длинных, но не очень высоких (до 2 м) грядах, которые время от времени перемешивают для вентиляции и более равномерного прохождения процесса. Появление неприятного запаха (сероводород, меркаптаны) предотвращают, накрывая компостные кучи слоем почвы.

Компостирование начинают мезофильные хемогетеротрофы. Их дыхание способствует разогреву компостной кучи, вследствие чего мезофилы замещаются термофильными микроорганизмами. Разогрев

происходит при аэробном окислении органики, причем чем больше биологическое потребление кислорода отходов, тем разогрев сильнее. При этом полимеры гидролизуются и мономеры превращаются в  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ . В конце концов температура компоста снижается и мезофилы вновь доминируют. Температура разогрева компоста может достигать до 76–80 °С. Такие температуры приводят к уничтожению болезнетворных микроорганизмов и семян сорных растений. Максимальная активность термофилов наблюдается при температуре от 60 до 65 °С. Аэрация, увлажнение и перемешивание компоста предотвращают его перегрев. При повышенной температуре компост следует держать как можно дольше, так как это не только ускоряет процесс компостирования, но также эффективно убивает патогенов. Перемешивание компостных куч не только делает конечный продукт более однородным, но и позволяет термофильным микроорганизмам использовать все органические вещества кучи (в противном случае термофильный процесс шел бы только в центре компостной кучи). Часто при перемешивании возникает вторая, и даже третья волна подъема температуры компостируемого материала. После снижения температуры мезофильный процесс, часто длящийся несколько месяцев, завершает компостирование и превращает органические отходы в превосходное органическое удобрение.

Наиболее важные микроорганизмы, участвующие в компостировании, – это *Bacillus stearothermophilus*, *Clostridium thermocellum*, *Pseudonocardia thermophila*, *Thermomonospora spp.* и *Thermoactinomyces spp.*

Важную роль играют и грибы родов *Geotrichum*, *Aspergillus* и *Mucor*.

В последние годы при компостировании (после термофильной фазы) используют круглых земляных червей (красные калифорнийские черви *Eisenia foetida*). Процесс носит название «вермикомпостирования». Подобно обычному компостированию, этот процесс требует аэрации, защиты от вредного влияния окружающей среды, а также поддержания оптимальной температуры и влажности. После переработки земляными червями старого компоста необходимо перемешивание и добавление свежего.

Преимущества вермикомпостирования состоят в полной естественной переработке органического вещества, минимальных затратах труда и ресурсов, снижении уровня патогенов и семян сорняков, образовании ценного готового органического удобрения.

Применение соломы в качестве органического удобрения приводит к обогащению почвы гумусом. Солому нарезают и запахивают в почву, причем глубина заделки зависит от температуры и влажности: чем они ниже, тем мельче должна быть заделка в почву. Высокое соотношение С : N в соломе стимулирует процесс микробной азотфиксации в почве.

Недостаток азота сразу после заделки соломы может быть компенсирован внесением азотных удобрений. При разложении соломы почвенными микроорганизмами выделяются значительные количества CO<sub>2</sub>, благотворно влияющего на растения. В то же время необходим определенный период времени между внесением соломы в почву и посевом семян для микробной деградации токсичных для растений соединений, содержащихся в соломе.

### **3.8. Биокоррозия промышленных и бытовых объектов и материалов**

*Биоповреждения (биокоррозия)* различных объектов и материалов вызываются как непосредственной активностью микроорганизмов, так и агрессивными продуктами их жизнедеятельности. Например, большая проблема в нефтедобыче и производстве нефтепродуктов – это биокоррозия трубопроводов и порча самого топлива.

При транспортировании нефти по трубам на их внутренней поверхности образуется прочная пленка микроорганизмов, с одной стороны, часто механически мешающая потоку, а с другой – повреждающая трубы. Повреждения возникают от действия серной кислоты, выделяемой микробами, окисляющими серу, содержащуюся в сырой нефти.

К коррозии также приводят выделения сульфатредуцирующими бактериями сероводорода, вступающего в реакцию с железом. В то же время и сама нефть, и нефтепродукты могут использоваться многими микроорганизмами, что изменяет химическую структуру этих веществ. Это представители грибов, в частности дрожжей, псевдомонады, микробактерии и многие другие. Часто рост возможен на поверхности раздела фаз вода – углеводород, что случается в хранилищах нефтепродуктов. Так растет, например, *Cladosporium resinae*, называемый керосиновым грибом.

Для борьбы с биокоррозией используют, прежде всего, сильнодействующие химические вещества – биоциды, различные присадки. Заменяют металлические трубы на более инертные пластиковые, облучают и механически очищают трубы и хранилища. Необходимо только иметь в виду, что все биоциды – очень ядовитые и экологически опасные вещества.

#### 4. ОСНОВЫ УЧЕНИЯ ОБ ИНФЕКЦИИ

В глубокой древности люди замечали заразительность таких болезней, как оспа, холера, чума, и даже использовали искусственное заражение с целью легкого переболевания и формирования невосприимчивости в дальнейшем.

Гиппократ (470–380 гг. до н. э.) важную роль в возникновении различных болезней отводил особым испарениям – «миазмам». Его теория заражения загнившей дождевой водой господствовала около полутора тысячелетий.

В 1546 г. Фрокасторо выдвинул учение о контагии (заразе). Это учение гласило, что заразные болезни распространяются путем передачи «контагии» от больного к здоровому организму при соприкосновении или через воду, корм, воздух. Гипотеза Фрокасторо была подтверждена после открытия микроскопа, затем микроорганизмов и, наконец, после открытия болезнетворных микроорганизмов Л. Пастером, Р. Кохом.

Всем ученым казалось, что вопрос о причине возникновения и распространения инфекционных болезней был решен, поэтому большинство практиков на заре открытия основных возбудителей инфекционных болезней были склонны видеть причиной инфекционных болезней микробов. Смысл слова «инфекция» различен. Под инфекцией понимают заразное начало, т. е. возбудителя в одном случае, а в другом случае это слово употребляется как синоним понятия «заражение», или «заразная болезнь». Чаще всего слово «инфекция» употребляется для обозначения инфекционной болезни.

*Инфекционные болезни имеют следующие отличительные особенности:*

- 1) причина – живой возбудитель;
- 2) наличие инкубационного периода, который зависит от вида микроба, дозы и др. Это период времени от проникновения возбудителя в



организм хозяина, его размножение и накопление до предела, обуславливающего болезнетворное действие на его организм (длится от нескольких часов до нескольких месяцев);

3) заразительность, т. е. способность возбудителя передаваться от больного животного здоровому (есть и исключения – столбняк, злокачественный отек);

4) специфические реакции организма;

5) невосприимчивость после переболевания.

#### 4.1. Общая характеристика инфекции

**Инфекция** – это совокупность биологических реакций, которыми макроорганизм отвечает на внедрение возбудителя.

Диапазон проявлений инфекций может быть различным.

*Крайними формами проявления инфекций являются:*

1) бактерионосительство, персистенция, живая вакцинация;

2) инфекционная болезнь; имеются клинические проявления инфекции, эти реакции могут привести к летальному исходу.

**Инфекционный процесс** – это ответная реакция коллектива популяции на внедрение и циркуляцию в ней микробных агентов.

*Инфекционные болезни имеют ряд характерных особенностей, отличающих их от других болезней:*

1) инфекционные болезни имеют своего возбудителя – микроорганизм;

2) инфекционные болезни контагиозны, т. е. способны передаваться от больного к здоровому;

3) инфекционные болезни оставляют после себя более или менее выраженную невосприимчивость или повышенную чувствительность к данному заболеванию;

4) для инфекционных болезней характерен ряд общих признаков, таких как лихорадка, симптомы общей интоксикации, вялость, адинамия;

5) инфекционные болезни имеют четко выраженную стадийность, этапность.

*Для возникновения инфекционного заболевания необходимо сочетание следующих факторов:*

1) наличие микробного агента;

2) восприимчивость макроорганизма;

3) наличие среды, в которой происходит это взаимодействие.

Микробный агент – это патогенные и условно-патогенные микроорганизмы.

Существенное значение для возникновения инфекционного заболевания имеет инфицирующая доза возбудителя – минимальное количество микробных клеток, способных вызвать инфекционный процесс. Инфицирующие дозы зависят от видовой принадлежности возбудителя, его вирулентности и состояния неспецифической и иммунной защиты.

Ткани, лишенные физиологической защиты против конкретного вида микроорганизма, служат местом его проникновения в макроорганизм, или входными воротами инфекции. Входные ворота определяют локализацию возбудителя в организме, патогенетические и клинические особенности заболевания.

Внешняя среда может оказывать влияние как на макроорганизм, так и на микробов-возбудителей. Это природно-климатические, социально-экономические, культурно-бытовые условия.

Для ряда инфекций характерны эпидемии и пандемии.

**Эпидемия** – это широкое распространение инфекции в популяции с охватом больших территорий, характеризующееся массовостью заболеваний.

**Пандемия** – это распространение инфекции практически на всю территорию земного шара с очень высоким процентом случаев заболеваний.

**Эндемичные заболевания** (с природной очаговостью) – это заболевания, для которых отмечены территориальные ареалы с повышенной заболеваемостью данной инфекцией.

## **4.2. Формы инфекции и периоды инфекционных болезней**

### **Классификация инфекций.**

#### *1. По этиологии:*

- 1) бактериальные;
- 2) вирусные;
- 3) протозойные;
- 4) микозы;
- 5) микст-инфекции.

#### *2. По количеству возбудителей:*

- 1) моноинфекции;

2) полиинфекции.

3. *По тяжести течения:*

1) легкие;

2) тяжелые;

3) средней тяжести.

4. *По длительности:*

1) острые;

2) подострые;

3) хронические;

4) латентные.

5. *По путям передачи:*

1) горизонтальные:

а) воздушно-капельный путь;

б) фекально-оральный;

в) контактный;

г) трансмиссивный;

д) половой;

2) вертикальные:

а) от матери к плоду (трансплацентарный);

б) от матери к новорожденному в родовом акте;

3) искусственные (искусственные) – при инъекциях, обследованиях, операциях и т. д.

*В зависимости от локализации возбудителя различают два вида инфекций:*

1) очаговую инфекцию, при которой микроорганизмы локализуются в местном очаге и не распространяются по всему организму;

2) генерализованную инфекцию, при которой возбудитель распространяется по организму лимфогенным и гематогенным путем. При этом развивается бактериемия или вирусемия. Наиболее тяжелая форма – сепсис.

*Выделяют также:*

1) экзогенные инфекции; возникают в результате заражения человека патогенными микроорганизмами, поступающими из окружающей среды с пищей, водой, воздухом, почвой, выделениями больного человека, реконвалесцента и микробоносителя;

2) эндогенные инфекции; вызываются представителями нормальной микрофлоры – условно-патогенными микроорганизмами самого индивидуума.

**Разновидностью эндогенных инфекций** являются аутоинфекции, они возникают в результате самозаражения путем переноса возбудителя из одного биотопа в другой.

*Выделяют следующие периоды инфекционных болезней:*

1) инкубационный; от момента проникновения возбудителя в организм до появления первых признаков заболевания. Продолжительность составляет от нескольких часов до нескольких недель. Больной не заразен;

2) продромальный; характеризуется появлением первых неясных общих симптомов. Возбудитель интенсивно размножается, колонизирует ткань, начинает продуцировать ферменты и токсины. Продолжительность – от нескольких часов до нескольких дней;

3) разгар болезни; характеризуется появлением специфических симптомов. Возбудитель продолжает интенсивно размножаться, накапливаться, выделяет в кровь токсины и ферменты. Происходит выделение возбудителя из организма, поэтому больной представляет опасность для окружающих. В начале данного периода в крови обнаруживаются специфические антитела;

4) исход. Могут быть разные варианты:

а) летальный исход;

б) выздоровление (клиническое и микробиологическое). Клиническое выздоровление: симптомы заболевания угасли, но возбудитель еще находится в организме. Этот вариант опасен формированием носительства и рецидивом заболевания. Микробиологическое – полное выздоровление;

в) хроническое носительство.

**Рейнфекцией** называют заболевание, возникающее после перенесенной инфекции в случае повторного заражения тем же возбудителем.

Суперинфекция возникает, когда на фоне течения одного инфекционного заболевания происходит заражение организма еще одним возбудителем.

### **4.3. Возбудители инфекций и их свойства**

Среди бактерий по способности вызывать заболевание выделяют следующие виды:

1) патогенные;

2) условно-патогенные;

3) сапрофитные.

Патогенные виды потенциально способны вызывать инфекционное заболевание.

**Патогенность** – это способность микроорганизмов, попадая в организм, вызывать в его тканях и органах патологические изменения. Это качественный видовой признак, детерминированный генами патогенности – вирулонами. Они могут локализоваться в хромосомах, плаزمидях, транспозонах.

Условно-патогенные бактерии могут вызывать инфекционное заболевание при снижении защитных сил организма.

Сапрофитные бактерии никогда не вызывают заболевания, так как они не способны размножаться в тканях макроорганизма.

Реализация патогенности идет через вирулентность – это способность микроорганизма проникать в макроорганизм, размножаться в нем и подавлять его защитные свойства.

Это штаммовый признак, он поддается количественной характеристике.

Вирулентность – фенотипическое проявление патогенности.

**Количественными характеристиками вирулентности являются:**

1) DLM (минимальная летальная доза) – это количество бактерий, при введении которых соответствующим путем в организм лабораторных животных получают 95–98 % гибели животных в эксперименте;

2) LD 50 – это количество бактерий, вызывающее гибель 50 % животных в эксперименте;

3) DCL (смертельная доза) вызывает 100%-ную гибель животных в эксперименте.

**К факторам вирулентности относят:**

1) **адгезию** – способность бактерий прикрепляться к эпителиальным клеткам. Факторами адгезии являются реснички адгезии, адгезивные белки, липополисахариды у грамотрицательных бактерий, тейхоевые кислоты у грамположительных бактерий, у вирусов – специфические структуры белковой или полисахаридной природы;

2) **колонизацию** – способность размножаться на поверхности клеток, что ведет к накоплению бактерий;

3) **пенетрацию** – способность проникать в клетки;

4) **инвазию** – способность проникать в подлежащие ткани. Эта способность связана с продукцией таких ферментов, как гиалуронидаза и нейраминидаза;

5) **агрессию** – способность противостоять факторам неспецифической и иммунной защиты организма.

***К факторам агрессии относят:***

1) вещества разной природы, входящие в состав поверхностных структур клетки: капсулы, поверхностные белки и т. д. Многие из них подавляют миграцию лейкоцитов, препятствуя фагоцитозу;

2) ферменты – протеазы, коагулазу, фибринолизин, лецитиназу;

3) токсины, которые делят на экзо- и эндотоксины.

**Экзотоксины** – высокоядовитые белки. Они термолабильны, являются сильными антигенами, на которые в организме вырабатываются антитела, вступающие в реакции токсинейтрализации.

Этот признак кодируется плазмидами или генами профагов (рис. 10).

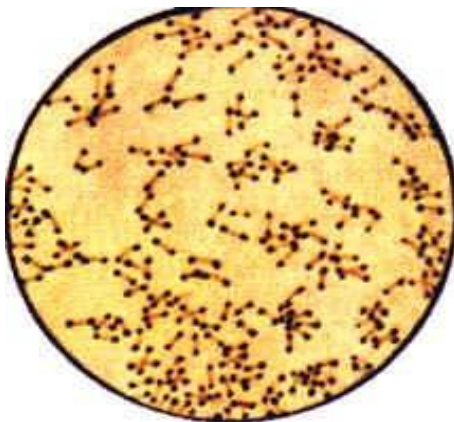


Рис. 10. Экзотоксины

Действие экзотоксинов наблюдается через определенный инкубационный период. Действия этих веществ высокоспецифические, они поражают определенные ткани и органы, что обуславливает характерную клиническую картину соответствующего заболевания, его патогенез и морфологию. Так, токсин столбняка действует на нейроны спин-

ного мозга, дифтерийный токсин поражает сердечную мышцу и надпочечники.

Поскольку экзотоксины являются белками, они весьма неустойчивы к высокой температуре и воздействию химических веществ (в частности большинство из них разрушается ферментами пищеварительной системы).

Очень важным свойством экзотоксинов является потеря токсичности.

После обработки их формалином или некоторыми другими химическими веществами токсины теряют свои ядовитые свойства, но сохраняют способность при введении в организм стимулировать образование антител – антитоксинов. Такие обезвреженные препараты токсинов называют анатоксинами.

В лаборатории экзотоксины получают путем выращивания микроорганизмов в жидкой питательной среде в течение нескольких суток. После этого культуру микроорганизмов фильтруют через фильтры, которые не пропускают бактерий. Полученный фильтрат содержит токсин и другие продукты метаболизма микроорганизмов. Для получения очищенных токсинов применяют различные методы – осаждение серноокислым аммонием, кислотами, спиртами, электродиализом, ультрафильтрацией и т. п.

**Эндотоксины** – сложные комплексы липополисахаридной природы. Они термостабильны, являются слабыми антигенами, обладают общетоксическим действием (рис. 11). Кодированы хромосомными генами.

В отличие от экзотоксинов, действие эндотоксинов на организм не отличается специфичностью. Эндотоксины, полученные из различных видов микроорганизмов, при введении в организм вызывают более или менее сходную клиническую картину. Попадая в организм, эти токсины начинают действовать сразу, почти без инкубационного периода. У животных после введения летальных доз эндотоксинов развиваются слабость, одышка, расстройство кишечника (диарея), снижение температуры. Гибель животных наблюдается через несколько часов. Сыворотка крови животных, которым вводились эндотоксины, не имеет высокой антиэндотоксичной активности и не полностью нейтрализует ядовитые вещества эндотоксинов.

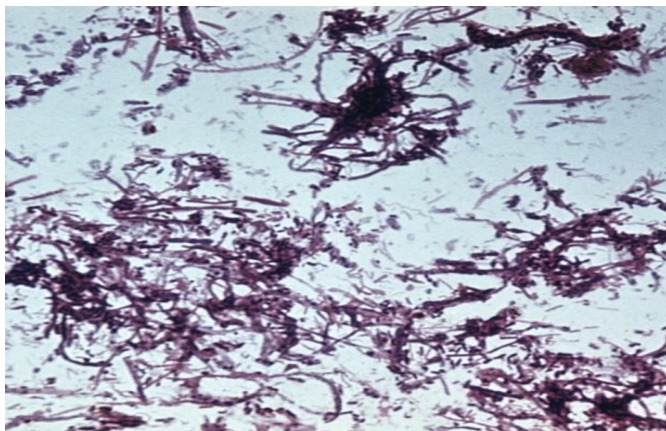


Рис. 11. Эндотоксины

По химической природе эндотоксины являются сложными глюко-липиды-полипептидными комплексами (липополисахариды). В отличие от экзотоксинов, они термостабильные. Наиболее изучены эндотоксины грамотрицательных бактерий – возбудителей брюшного тифа, дизентерии, холеры.

В лаборатории эндотоксины получают разрушением клеток бактерий разнообразными способами. Среди них растирание высушенных клеток в растворах поваренной соли, замораживания и оттаивания суспензии бактерий, разрушение ультразвуком, обработка трихлоруксусной кислотой и т. д.



## ЛИТЕРАТУРА

1. Асонов, Н.Р. Микробиология / Н. Р. Асонов. – М.: Агропромиздат, 1989. – 351 с.
2. Ветеринарная микробиология и иммунология / под ред. Н. А. Радчука. – М.: Агропромиздат, 1991. – 383 с.
3. Соляник, Т.В. Микробиология: метод. указания к лаб. занятиям / Т. В. Соляник, М. А. Гласкович. – Горки: БГСХА, 2014. – 40 с.
4. Микробиология: учеб.-метод. пособие / Т. В. Соляник, А. А. Гласкович, А. А. Вербицкий, М. А. Гласкович. – Горки: БГСХА, 2009. – 115 с.

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	3
1. МИКРОБИОЛОГИЯ КАК НАУКА. ИСТОРИЯ МИКРОБИОЛОГИИ .....	8
2. ВВЕДЕНИЕ В МИКРОБИОЛОГИЮ .....	12
2.1. Предмет и задачи микробиологии .....	12
2.2. Систематика и номенклатура микроорганизмов .....	13
2.3. Питательные среды и методы выделения чистых культур .....	22
2.4. Особенности строения бактериальной клетки. Основные органеллы и их функции .....	24
2.5. Строение клеточной стенки и цитоплазматической мембраны .....	26
3. ПРАКТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ .....	31
3.1. Микробиологическое производство продуктов .....	32
3.1.1. Молочные продукты. Использование молочнокислых бактерий (МКБ) .....	33
3.1.2. Микроорганизмы мяса и мясных продуктов .....	43
3.1.3. Микроорганизмы рыбы и морепродуктов .....	47
3.1.4. Консервированная пища .....	48
3.1.5. Использование дрожжей. Хлебопечение .....	49
3.1.6. Микробиологические основы виноделия и пивоварения .....	50
3.2. Микробиология кормов .....	53
3.3. Использование биомассы микроорганизмов .....	55
3.4. Непищевые микробиологические процессы переработки растительного сырья .....	55
3.5. Порча пищевых продуктов .....	57
3.6. Болезнетворные микроорганизмы .....	62
3.7. Микробиологические процессы получения биопрепаратов для сельского хозяйства .....	63
3.7.1. Роль микроорганизмов при получении органических удобрений. Компостирование .....	67
3.8. Биокоррозия промышленных и бытовых объектов и материалов .....	71
4. ОСНОВЫ УЧЕНИЯ ОБ ИНФЕКЦИИ .....	72
4.1. Общая характеристика инфекции .....	73
4.2. Формы инфекции и периоды инфекционных болезней .....	74
4.3. Возбудители инфекций и их свойства .....	76
ЛИТЕРАТУРА .....	81

Учебное издание

**Соляник** Татьяна Владимировна  
**Гласкович** Мария Алевтиновна  
**Гласкович** Алефтина Абликасовна

МИКРОБИОЛОГИЯ

В пяти частях

Часть 1

ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Курс лекций

Редактор Н. А. Матасёва  
Технический редактор Н. Л. Якубовская

Подписано в печать 29.12.2014. Формат 60×84 1/16. Бумага офсетная.  
Ризография. Гарнитура «Таймс». Усл. печ. л. 4,88. Уч.-изд. л. 3,95.  
Тираж 75 экз. Заказ .

УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия».  
Свидетельство о ГРИИРПИ № 1/52 от 09.10.2013.  
Ул. Мичурина, 13, 213407, г. Горки.

Отпечатано в УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия».  
Ул. Мичурина, 5, 213407, г. Горки.