

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДНІПРОВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ФАХОВИЙ КОЛЕДЖ

Предметна комісія біохімічних та екологічних дисциплін

**Конспект лекцій з дисципліни З ПП07 «Основи мікробіології і вірусології»
для студентів спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»
галузі знань 16 «Хімічна та біоінженерія»**

Дніпро

2023

Лекція № 1	4-7
Тема 1.1 Загальна характеристика світу мікроорганізмів. Об'єкти вивчення в мікробіології.	
Лекція № 2	7-8
Історія розвитку мікробіології	
Лекція № 3	8-10
Морфологія бактерій: коки, палички, звивисті форми	
Лекція № 4	10-12
Біологічно активні речовини грибів	
Лекція № 5	12-14
Дріжджі: будова, систематика, використання	
Лекція № 6	14-17
Характеристика прокаріотичної клітини. Хімічний склад бактеріальної клітини. Клітинна стінка	
Лекція № 7	17-18
Ендоспори та інші форми спокою у бактерій	
Лекція №8	19-20
Фізико-хімічні властивості бактеріальної клітини	
Лекція № 9	20-23
Ферменти мікроорганізмів	
Лекція № 10	23-25
Тема 1.3 Систематика прокаріот. Принципи класифікації прокаріот. Номенклатура	
Лекція № 11	25-27
Концепція виду у бактеріології. Характеристика таксонів	
Лекція 12	27-29
Тема 2.1. Ріст мікроорганізмів. Поняття про ріст і розмноження мікроорганізмів	
Лекція 13	29-30
Вивчення біомаси. Відкриті і закриті системи. Ріст бактерій у періодичній культурі	
Лекція 15	31-21
Хемостатна культура	
Лекція 16	32-33
Пригнічення росту і загибель мікроорганізмів під дією різноманітних агентів	
Лекція № 17	33-35
Дія на мікроорганізми хімічних факторів	
Лекція 18.	35-37
Тема 2.2. Живлення мікроорганізмів. Головні та мінорні елементи, які необхідні для мікроорганізмів	

	Лекція 19	38-39
Механізми синтезу АТФ		
	Лекція 20	40-41
Поняття субстрату. Механізми поглинання субстратів		
	Лекція № 21	41-46
Методи стерилізації		
	Лекція № 22	47-49
Типи бродіння. Загальна характеристика процесу бродіння		
	Лекція 23	49-50
Тема 2.3. Обмін речовин мікроорганізмів. Фотосинтезуючі пурпурові і зелені бактерії		
	Лекція 24	51-52
Хемоавтотрофи. Сіркобактерії		
	Лекція № 25	52-54
Нитчасті сіркобактерії та тіонові бактерії. Nitrosomonas. Nitrobacter. Нітрифікація. Залізобактерії		
	Лекція 26	54-55
Аеробне окиснення вуглеводів грибами. Анаеробні процеси		
	Лекція 27	55-57
Молочнокисле бродіння. Збродження пектинових речовин. Збродження клітковини		
	Лекція № 28	57-59
Анаеробні гнилісні бактерії. Бульбочкові бактерії. Вільні азотфіксуючі бактерії		
	Лекція 29	59-60
Процес амоніфікації і його типи		
	Лекція № 30	60-61
Перетворення речовин, які містять карбон, в природі		
	Лекція № 31	61-62
Тема 2.4. Метаболічні процеси у мікроорганізмів. Біохімічні основи регуляції		
	Лекція № 32	63-64
Регуляція синтезу ферментів. Регуляція активності ферментів		
	Лекція № 33	65-66
Індукція синтезу ферменту. Репресори. Діауксія. Катаболічна репресія		

Лекція № 1

Тема 1.1 Загальна характеристика світу мікроорганізмів. Об'єкти вивчення в мікробіології

Починаючи з Аристотеля (384—322 рр. до н.е.), якому належить перша спроба систематизувати накопичені на той час відомості про організми, біологи ділили живий світ на два царства — рослин і тварин. А. ван Левенгук, що відкрив мир мікроскопічних живих істот, був переконаний у тому, що вони є «маленькими живими тваринками». Із цього часу й до XIX ст. усі мікроорганізми, що відкриваються, розглядали як дрібні істоти тваринної природи. У другій половині XIX в. німецький біолог Е. Геккель (1834—1919) доходить висновку, що мікроорганізми настільки суттєво відрізняються як від царства тварин, так і від царства рослин, що не укладаються в жодне із цих підрозділів. Е. Геккель запропонував виділити всі мікроорганізми, у яких відсутнє диференціювання на органи й тканини (найпростіші, водорості, гриби, бактерії), в окреме царство Protista (протисти, першоістоти), включивши в нього організми, у багатьох відношеннях, що займають проміжне положення між рослинами й тваринами. Термін «protista» і зараз застосуємо для позначення об'єктів, досліджуваних мікробіологами.

Дані про відмінність у будові клітин мікроорганізмів, що входять у групу Protista, почали накопичуватися з кінця XIX в. Це спричинило розподіл групи на вищі й нижчі протисти. До вищих протистів стали відносити мікроскопічних тварин (найпростіших), мікроскопічні водорості (крім синьозелених) і мікроскопічні гриби (цвілі, дріжджі), до нижчих — усі бактерії й синьозелені водорості (останні частіше називають тепер ціанобактеріями). Розподіл на вищі й нижчі протисти відбувався відповідно двома виявленими типами клітинної організації — еукаріотної і прокаріотної. Вищі протисти мають еукаріотну будову клітин, тобто є еукаріотами, нижчі — прокаріотну.

Р.Виттекер (R. Whittaker) запропонував схему, по якій усі живі організми, що мають клітинну будову, представлені розділеними на п'ять царств. Така система класифікації живого світу відбиває три основні рівні його клітинної організації: Monera включає прокаріотні організми, що перебувають на самому примітивному рівні клітинної організації; Protista — мікроскопічні, здебільшого одноклітинні, недиференційовані форми життя, що сформувалися в результаті якісного стрибка в процесі еволюції, який привів до виникнення еукаріотних клітин; багатоклітинні еукаріоти представлені, у свою чергу, трьома царствами Plantae, Fungi і Animalia.

Три останні таксономічні групи різняться по способу харчування: фототрофний тип харчування за рахунок процесу фотосинтезу характерний для рослин (Plantae); гриби (Fungi) в основному характеризуються осмотрофним

типом харчування, тобто харчуванням розчиненими органічними речовинами; тварини (Animalia) здійснюють голозойне харчування, що полягає в захопленні й переварюванні твердої їжі. Способи харчування, специфічні для рослин і грибів, виникли в процесі еволюції на рівні Monera. На рівні Protista вони одержали свій подальший розвиток; тут же сформувався третій тип харчування — голозойний.

Об'єктами вивчення в мікробіології є: бактерії, деякі групи грибів, найпростіші, а також віруси. Мікробіологія відповідно названих об'єктах розділена на самостійні дисципліни: бактеріологію, мікологію, протозоологію і вірусологію.

Бактерії (від слова bacterion - паличка) - це найбільш широко поширена в природі група мікроорганізмів, що представляють собою великий і надзвичайно різноманітний світ мікроскопічних істот. Клітини найбільш дрібних кулястих бактерій мають в поперечнику менше 0,1 мкм. Переважна більшість бактерій - це палички, товщина яких в середньому становить 0,5-1 мкм, а довжина 2-3 мкм. Дуже рідко зустрічаються бактерії-«гіганти», клітини яких мають у діаметрі 5-10 мкм, а в довжину досягають 30--100 мкм.

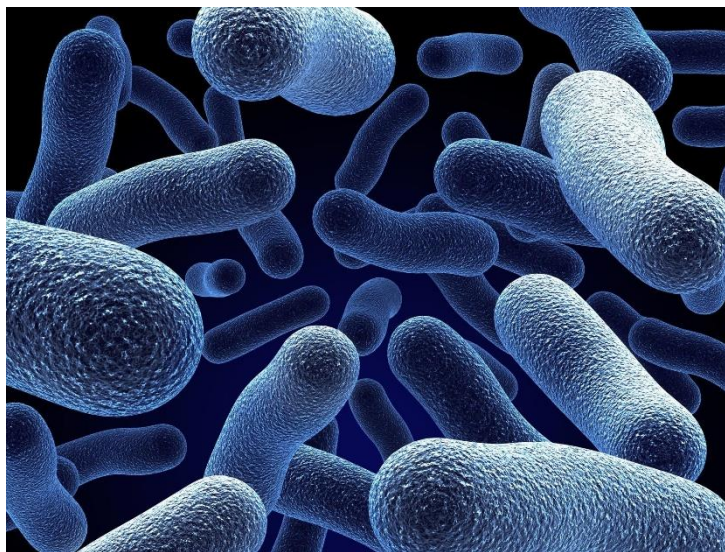


Рисунок 1 – Бактерії

Найпростіші, одноклітинні організми надцарства еукаріот. Систематика найпростіших служить предметом наукових дискусій. Згідно найбільш обґрунтованим з усіх запропонованих систем найпростіші є або самостійним царством, або підцарством в царстві тварин і включають в себе типи саркодових, жгутикових, споровиків, інфузорій і ін. Число сучасних найпростіших за різними оцінками становить від 40 тис. до 70 тис. видів.

Гриби (Fungi, Mycetes) - нижчі рослинні організми, які не мають хлорофілу. Відіграють важливу роль у кругообігу речовин в природі, а також в промисловості при виготовленні хліба, вина, пива. Серед грибів є збудники захворювань людини і тварин. Гриби характеризуються більш складною

будовою, ніж бактерії, і більш досконалими способами розмноження. Гриби покриті оболонкою, мають диференційоване ядро, різні включення і вакуолі в цитоплазмі.

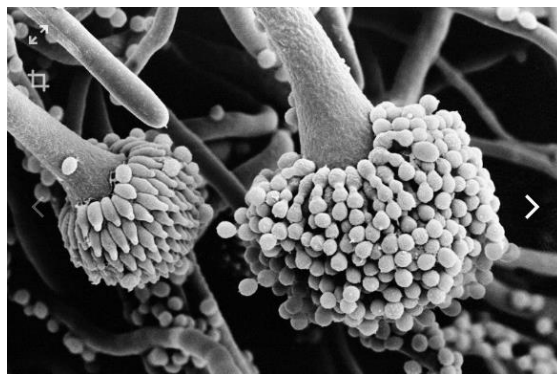


Рисунок 2 – Mycetes

Віруси (лат. *Virus* отрута) - дрібні мікроорганізми, які не мають клітинної будови, відсутній синтез білка і вони здатні до відтворення лише в клітинах високоорганізованих форм життя. Вони широко поширені в природі, вражають тварин, рослини та інші мікроорганізми. Віруси характеризуються рядом унікальних властивостей, що відрізняють їх від найпростіших, грибків, бактерій - мікроорганізмів, що мають клітинну будову і генетичний матеріал, представлений двонитковою ДНК. Віруси не мають рибосом і цитоплазматичних органел, їх відтворення забезпечує клітина-господар.

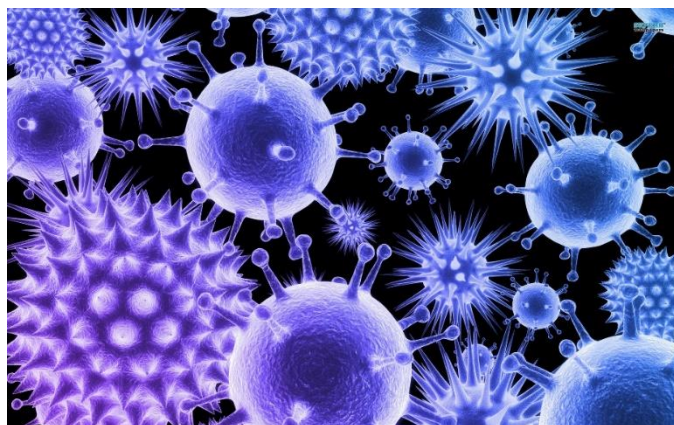


Рисунок 3 – Віруси

Молекула вірусного генома наділена надзвичайною здатністю перебудувати життєдіяльність клітини таким чином, що вона перестає впізнавати власну генетичну інформацію і функціонує відповідно до генетичної програмою вірусу, синтезуючи вірусоспецифічні молекули. З цієї точки зору віруси є генетичними паразитами клітини.

Питання для самоконтролю

1. Морфологія, фізіологія і класифікація бактерій.
2. Морфологія, фізіологія і класифікація мікроскопічних грибів.
3. Морфологія, фізіологія і класифікація дріжджів.

4. Морфологія, фізіологія і класифікація вірусів і фагів.

Лекція № 2

Історія розвитку мікробіології

Виділяють п'ять історичних періоду розвитку і становлення мікробіології як науки.

I. Евристичний період пов'язаний швидше з логічними і методичними прийомами знаходження істини, ніж з будь-якими експериментами і доказами. Гіппократ, Парацельс (VI століття до н.е.) висловлювали припущення про природу заразних хвороб, міазми, дрібних невидимих тварин. У найбільш закінченою формі ідею сформулював Джироламо Фракасторо у праці «Про контагії, контагіозних хворобах і лікуванні» (1546г.), Де висловив ідею про живу контагії «зародків хвороби», який викликає хвороби. При цьому кожна хвороба викликається своїм контагії. Для запобігання хвороб ім були рекомендовані ізоляція хворого, карантин, носіння масок, обробка предметів оцтом. Однак це були гіпотези, доказів яких у них не було.

II. Описовий період (морфологічний) пов'язаний зі створенням мікроскопа і відкриттям мікроскопічних істот, невидимих оком людини. Перший мікроскоп був створений у 1590 році голландськими вченими Гансом і Захарій Янсен, але у нього було збільшення всього лише в 32 рази. Голландський натураліст Антоніо Левенгук (1632 - 1723гг.) Сконструював мікроскоп зі збільшенням в 160-300 разів, за допомогою якого йому вдалося виявити дрібних «живих звірків» («анімалькулей», від лат. Animalcula, звірятко) в дощовій воді, зубному нальоті і інших матеріалах. В цей же період в 1771 р російський лікар Данило Самойлович (1744 - 1805 рр.) В досвіді самозараження гноем хворих на чуму довів роль мікроорганізмів в етіології чуми і можливість запобігання людей від чуми за допомогою щеплень. Щоб довести, що чума викликається особливим збудником, він заразив себе виділенням бубон хворого чумою людини і захворів чумою. На щастя, Д. Самойлович залишився живий. Едвард Дженнер (1749 - 1823 рр.) Створив і успішно застосував вакцину для профілактики натуральної віспи, взявши матеріал від доярки, хворий коров'ячої віспою.

III. Фізіологічний період (Пастеровский) - «золоте століття» мікробіології. Л. Пастер (1822 - 1895 рр.) - засновник французької школи мікробіології, його основні досягнення: - бродіння і гниття - мікробний процес; - мимовільне зародження неможливо; - хвороби вина та пива; - хвороби шовкопрядів; - вакцина проти сказу, сибірської виразки у тварин і курячої холери; - пропозиція м'якого методу стерилізації - пастеризації. Р. Кох (1843 - 1910 рр.) - засновник школи німецьких мікробіологів, його досягнення: - виділив паличку сибірки; - виділив збудника туберкульозу та холери; - впровадив у практику мікробіології анілінові барвники, іммерсійну систему, щільні поживні середовища.

IV. Імунологічний період пов'язаний з роботами І. І. Мечникова і П. Ерліха. І. І. Мечников (1845-1916гг.) - один з основоположників імунології, описав

явище фагоцитозу (клітинна теорія імунітету). Пауль Ерліх (1854-1915гг.) Сформулював теорію гуморального імунітету, пояснивши походження антитіл і їх взаємодію з антигенами. У 1908 р І. І. Мечникову і П. Ерліха була присуджена Нобелівська премія за роботи в області імунології. Д. І. Івановський (1864-1920гг.) - першовідкривач вірусів. Будучи співробітником кафедри ботаніки Петербурзького університету в 1892 р при вивченні мозаїчної хвороби тютюну прийшов він до висновку, що захворювання викликане фільтрується агентом, згодом названим вірусом. 1928 г. - А. Флемінг, вивчаючи явища мікробного антагонізму, отримав нестабільний пеніцилін. А в 1940 р - Г. Флорі і Е. Чейн отримали стабільну форму пеніциліну.

V. Сучасний період (молекулярно - генетичний) пов'язаний з науково-технічною революцією в природознавстві.

1944 г. - Доведено роль ДНК у передачі спадкової інформації (О. Евері, К. Мак-Леод, К. Мак-Карті);

1953 р – розшифрування структури ДНК Д. Уотсон і Ф. Крик;

1958 г. - Опис явища імунологічної толерантності (П. Медавар і Гашек);

1959 г. - змодельовати молекулу імуноглобуліну (Р. Портер і Д. Едельман);

У 60-70 рр. з'явилися роботи з генетики бактерій, становлення генної інженерії;

1982 г. - Відкрили ВІЛ (Р. Галло, 1983 р Л. Монтаньє).

Питання для самоконтролю

1. Обмін речовин мікроорганізмів.
2. Вплив зовнішнього середовища (фізичні фактори).
3. Вплив хімічних факторів на мікроорганізми.
4. Вплив біологічних факторів на мікроорганізми.

Лекція № 3

Морфологія бактерій: коки, палички, звивисті форми

Порівняно з морфологічною різноманітністю багатоклітинних організмів, бактерії морфологічно відносно мало диференційовані. Взагалі розрізняють 3 основні форми бактерій: 1) коки – сферичні чи кулясті клітини (з грецької - зерно); 2) бактерії і бацили – паличкоподібні клітини (з грецької - паличка); 3) звивисті форми.

Сферичні бактерії найбільш прості форми бактеріальної клітини. Таку форму мають коки, котрі мають діаметр від 1,5 – 2,5 мкм. Кокові форми не утворюють спор, нерухомі, різноманітні за фізіологічними властивостями і широко розповсюдженні в природі. Серед коків вирізняють: а) мікрококи – якщо після поділу клітини розходяться; б) диплококи – якщо клітини діляться в одній площині і створюють пари; в) стрептококи – якщо клітини діляться в одній

площині, але не відділяються одна від одної (*Streptococcus lactis*); г) тетракоки – коки, які діляться в двох взаємно перпендикулярних площинах, утворюючи групу з чотирьох клітин; д) сарцини – коки діляться в трьох взаємно перпендикулярних площинах і створюють групу з 8–16 клітин. Прикладом сарцин, які зустрічаються в повітрі, воді, у ґрунті є *Sarcina lutea*, *Sarcina flava*, *Sarcina ureae*. е) стафілококи – скупчення клітин, що нагадують виноградні грона.



Рисунок 4 – Сарцини

Паличкоподібні бактерії. Найбільш багаточисленною і різноманітною групою є бактерії циліндричної (паличкоподібної) форми. Серед паличкоподібних форм виділяють – бацили, це ті палички, які здатні утворювати спори. Не здатні до спороутворення палички називаються бактеріями. Розміри найбільш поширених бактерій, що не утворюють спори, 0,8x3 мкм; розміри бацил – 1,2 x 3,2–11 мкм. Ширина клітини в межах від 0,5x1 мкм. Прикладом можуть бути роди *Pseudomonas* та *Bacillus*.



Рисунок 5 – Паличкоподібні бактерії

Звивисті бактерії. До звивистих форм відносять вібріони, спірили, спірохети. Вони відрізняються не тільки за довжиною і діаметром клітин, але й за кількістю й характером завитків. Вібріони – грамнегативні, злегка скручені палички, розміри від 1 до 3 мкм, спори не утворюють. Деякі з них мають кінцевий джгутик (холерний вібріон). Багато вібріонів, як патогенних, так і сапрофітів мешкають у воді.

Спірили – грамнегативні бактерії, які мають різну кількість звивин (3-5) довжиною 5-10 мкм. Більшість з них сапрофіти, живуть у воді, ґрунті, входять до складу нормальної мікрофлори людини.

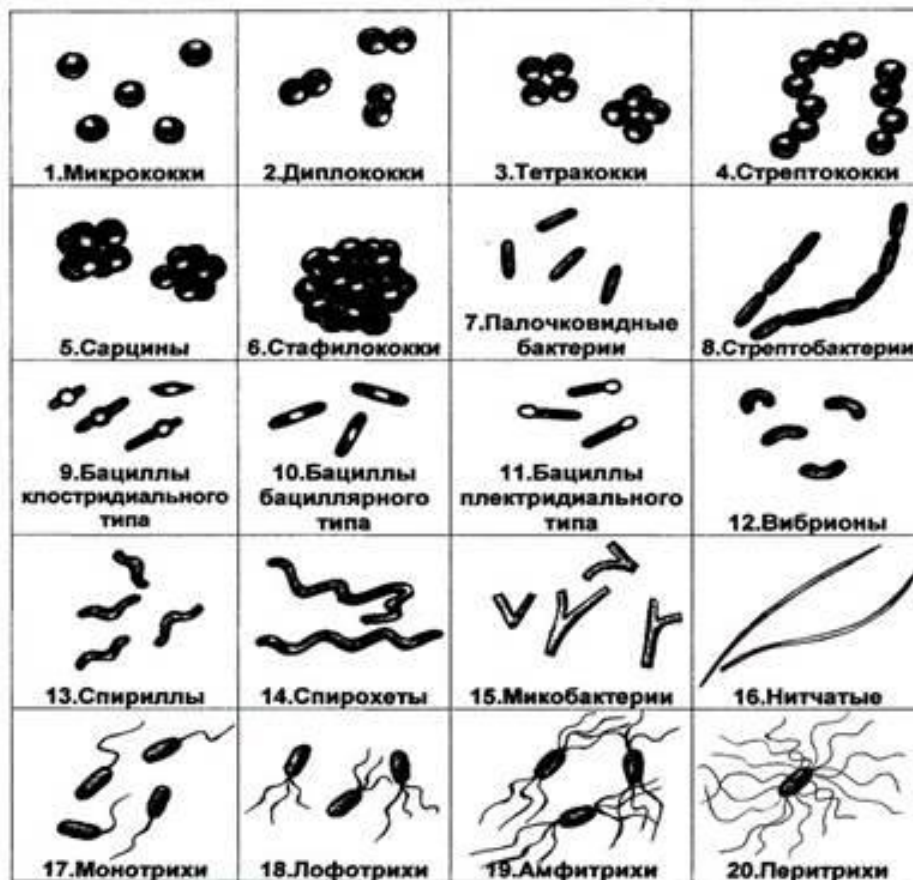


Рисунок 6 – Морфологія мікроорганізмів

Спірохети – мають ряд особливостей. Протоплазма обмежена цитоплазматичною мембраною, клітинна оболонка складається з тонкого шару пептидоглікану. Між клітинною стінкою і цитоплазматичною мембраною знаходяться пучки фібрил, закручені навколо клітини спірохети. Вони надають клітинам гвинтовидної форми й обумовлюють їх рух. Розміри клітин коливаються в широких межах і залежать від виду (довжина до 80 мкм, діаметр 0,1-0,6 мкм).

Питання для самоконтролю

1. Поширення мікроорганізмів у природі: мікрофлора ґрунту.
2. Поширення мікроорганізмів у природі: мікрофлора води.
3. Поширення мікроорганізмів у природі: мікрофлора повітря.
4. Мікрофлора харчових продуктів.

Лекція № 4 Біологічно активні речовини грибів

Біологічно активні речовини грибного походження — це ферменти, антибіотики, полісахариди, токсини, стимулятори росту рослин і вітаміни. Одні

з цих речовин більшою чи меншою мірою пов'язані з клітинними структурами, інші — у значних кількостях виділяються у культуральну рідину. Багато які біологічно активні речовини грибного походження використовуються в промисловості, медицині, сільському господарстві.

Серед біологічно активних сполук, що синтезуються грибами, є первинні та вторинні метаболіти. Первинними метаболітами називаються продукти обміну, необхідні для росту і життєдіяльності продуцента. До вторинних належать метаболіти, які не є необхідними для росту і розмноження продуцента. Прикладом первинних метаболітів можуть бути органічні кислоти, амінокислоти, деякі ферменти. Вторинні метаболіти — антибіотики, екзополісахариди, деякі ферменти.

Таблиця 1 - Біологічно активні речовини грибів

№	Біологічно активна речовина	Продуценти
Ферменти		
1	α-Амілаза	<i>Aspergillus awamori</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. amylolyticus</i> , <i>Rhizopus delemur</i>
2	Глюкоаміаза	<i>Aspergillus niger</i> , <i>A. awamori</i> , <i>A. oryzae</i>
3	α-Глюкозидаза	Види родів: <i>Aspergillus</i> та <i>Rhizopus</i>
4	Декстринази	Види родів: <i>Aspergillus</i> та <i>Rhizopus</i>
5	Целюлази	<i>Trichoderma koningi</i> , <i>Trichoderma viride</i> , <i>Aspergillus terreus</i> , <i>Aspergillus oryzae</i> , <i>Trichotecium roseum</i>
6	Ксиланази	Види родів: <i>Aspergillus</i> , <i>Fusarium avenaceum</i>
7	Пектинази	<i>Botrylls cinerea</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus oryzae</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Rhizopus stolonifer</i>
8	Протеази	Види родів: <i>Aspergillus</i> , <i>Mucor</i> , <i>Rhizopus</i> , <i>Penicillium</i>
9	Глюкозооксидаза та каталаза	<i>Penicillium vitale</i>
10	Пеніцилін (ногатій)	<i>Penicillium notatum</i> , <i>Penicillium chrysogenum</i>
11	Цитринін	<i>Penicillium citrinum</i>
12	Гризеофульвін	<i>Penicillium griseofulvum</i>
13	Фумігатиу	<i>Aspergillus fumigatus</i>
14	Гліотоксин. віридин	<i>Trichoderma viride</i>

Токсини		
15	Стахіботриотоксини	<i>Stachybotrys alternans</i>
16	Дендродохіни	<i>Dendrodochium toxicum</i>
17	Спорофузаріотоксини	<i>Fusarium sporotrichiflora</i>
18	Афлатоксини	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus oryzae</i>
19	Склероглюкан	<i>Sclerotium rolfsii</i> , <i>Sclerotium sp.</i> <i>Sclerotium glucanicum</i>
20	Пулулау	<i>Aureobasidium pullulans</i>
21	Гібереліни	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>Fusarium oxysporum</i>
22	Вітаміни групи В	Вид роду <i>Aspergillus</i>
23	Каротини	<i>Blakeslea trispora</i>
24	Лимонна кислота	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus wentii</i>
25	Глюконова кислота	<i>Aspergillus niger</i>

Питання для самоконтролю

1. Біохімічні перетворення речовин мікроорганізмами.
2. Промислове використання мікроорганізмів.
3. Джерела патогенних мікроорганізмів у промисловості.
4. Здатність мікроорганізмів до виживання у зовнішньому середовищі.

Лекція № 5

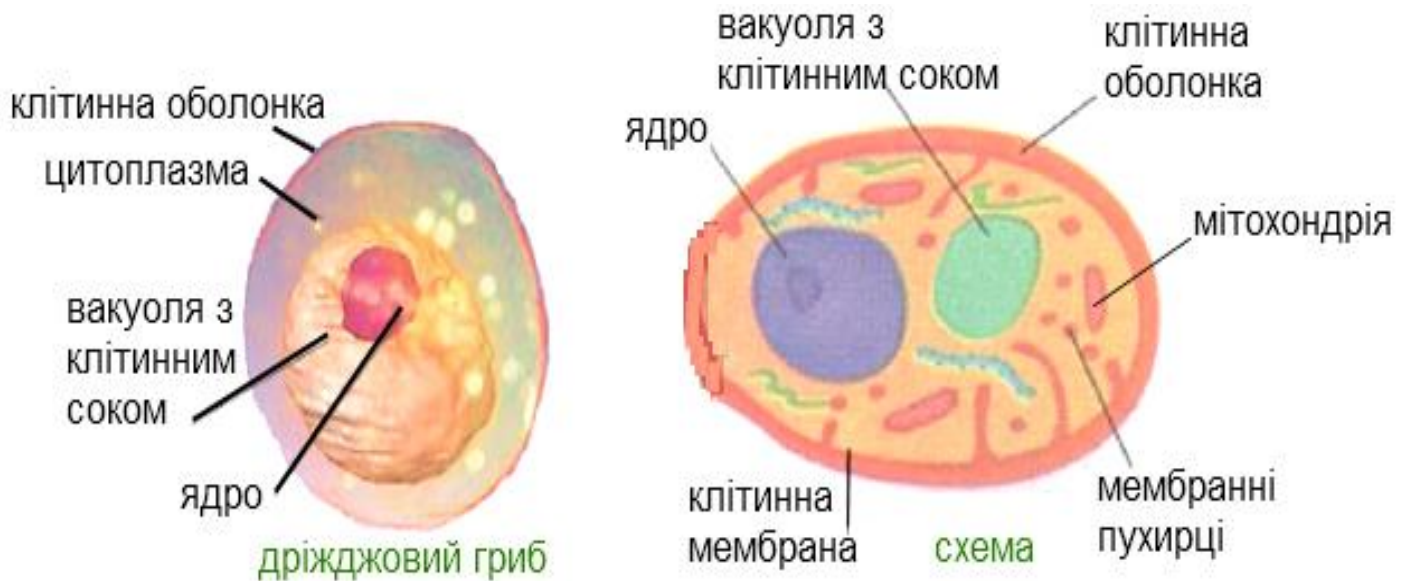
Дріжджі: будова, систематика, використання

Дріжджові гриби — велика група мікроскопічних грибів, у яких міцелій спрощений і легко розпадається на окремі клітини (клас Аскоміцети). Клітина дріжджів має характерну для грибів будову — це еукаріотичні клітини, вкриті клітинною оболонкою і позбавлені хлоропластів. Переважають одноядерні клітини, у клітинній оболонці відсутній хітин.

Рисунок – Будова Дріжджів

Систематика дріжджів заснована на відмінності їх способів розмноження і фізіологічних ознак. Дріжджі поділяються на два сімейства: **сахароміцети** і **несахароміцети**.

Сахароміцети. Вони об'єднують істинні дріжджі, до числа яких відносяться культурні дріжджі, використовувані в промисловості (пекарські, винні, гуральні та ін.) Велике значення мають такі види культурних дріжджів: сахароміцес церевізі і сахароміцес еліпсоїдес. Дріжджі сахароміцес церевізі мають кулясту або яйцеподібну форму, використовують їх для отримання винного спирту, в пивоварінні, квасоварінні і хлібопеченні. Існує кілька різновидів цих дріжджів, званих расами. Кожна раса має свої особливості і тому використовується в промисловості з певною метою. Раса, що володіє здатністю



швидко і повно зброджувати цукор при температурі близько 30°C і стійка до спирту, застосовується для отримання спирту. Інша раса, здатна викликати повільне бродіння при температурі $4-10^{\circ}\text{C}$, використовується в пивоварінні. Дріжджі, що володіють високою енергією бродіння і підйомної силою і здатні швидко розмножуватися, застосовуються в хлібопеченні. Дріжджі сахароміцес еліпсоїдес мають еліпсоїдну форму і застосовуються у виноробстві. Різні раси цих дріжджів мають здатність надавати винам специфічні смакові і ароматичні відтінки, тобто створювати так званий букет.

Несахароміцети. Ці мікроорганізми включають в себе помилкові дріжджі. Багато з них є шкідниками різних виробництв. Серед цих дріжджів найбільш важливі дріжджі пологів Торул і мікодерма. Дріжджі роду Торул мають кулясту форму і здатні викликати слабе спиртове бродіння. Торул кефір застосовується для приготування молочнокислих продуктів, що містять спирт (кефіру і кумису), а Торул утіліс – для отримання харчових і кормових дріжджів. Дріжджі роду мікодерма являють собою подовжені клітини. Вони не здатні викликати спиртове бродіння, але можуть окисляти спирт, а також органічні кислоти у вуглекислий газ і воду. Розвиваючись на поверхні алкогольних напоїв, мікодерма утворює зморшкуваті плівки і додає напоям неприємний смак і запах. Мікодерма викликає псування молочнокислих продуктів, квашених овочів, завдає шкоди у виробництві оцту і пекарських дріжджів.

Питання для самоконтролю

1. Санітарна бактеріологія харчових продуктів.
2. Санітарна вірусологія харчових продуктах.
3. Мікроорганізми і харчові отруєння.
4. Мікроорганізми і харчові інфекції.
5. Морфологія мікроорганізмів.

Лекція № 6

Характеристика прокаріотичної клітини. Хімічний склад бактеріальної клітини. Клітинна стінка

Хімічний склад бактеріальної клітини подібний до хімічного складу клітин інших живих організмів. Компонентами мікробної клітини є вода, мінеральні речовини та органічні сполуки — білки, нуклеїнові кислоти, вуглеводи та ліпіди.

Клітинна вода. Вода становить 75-90 % маси вегетативної клітини. Вміст води в спорах значно нижчий. Нормальний метаболізм, ріст і розмноження мікроорганізмів можливі тільки у водному середовищі. Вода є розчинником органічних і мінеральних речовин, дисперсійним середовищем для колоїдів, джерелом протонів і гідроксильних іонів, а також джерелом водню та кисню в процесах метаболізму бактерій. Вода в клітині міститься в двох станах: вільна — є розчинником, бере участь у процесах асиміляції та дисиміляції; зв'язана з клітинними колоїдами.

Елементний склад клітини. До складу бактеріальної клітини входять такі елементи, % до маси сухої речовини: вуглець — 50; кисень — 20; азот — 10-14; водень — 8; фосфор — 3; сірка, калій, натрій — 1; кальцій, магній, хлор — 0,5; залізо — 0,2; решта елементів — близько 0,3. Вуглець, кисень, водень та азот є основними компонентами органічних сполук, з яких побудована клітина. Сірка необхідна для синтезу амінокислот цистеїну та метіоніну, а також деяких коферментів. Фосфор входить до складу нуклеїнових кислот, фосфоліпідів, тейхоевих кислот і таких нуклеотидів, як АТФ, ГТФ, НАД та ФАД. Іони калію, магнію, кальцію та заліза є кофакторами ферментів і компонентами металокомплексів. Так, більшість біологічно активних фосфорних ефірів міститься в клітинах у вигляді комплексів з магнієм. Іони заліза входять до складу компонентів дихального ланцюга (цитохроми, залізосіркові білки).

Органічні сполуки. Органічні сполуки, з яких складається клітина, наведено у таблиці. Вміст білків, нуклеїнових кислот, вуглеводів і ліпідів у бактеріальній клітині не постійний і змінюється залежно від виду бактерій, віку культури, складу поживного середовища та інших умов вирощування. У таблиці наведено середні дані щодо вмісту органічних сполук.

Білки. Білки становлять 40-80 % маси бактеріальної клітини і представлені простими білками (**протеїнами**) і складними (**протеїдами**). Протеїни

складаються тільки з амінокислот, протеїди — з амінокислот і речовин небілкової природи. До складу бактеріальних білків входять ті самі 20 найважливіших амінокислот, що і до складу білків рослин і тварин. Амінокислотний склад білків різних видів бактерій кількісно та якісно різний. Так, у складі білків сардин міститься багато лізину, у бацил — глутамінової кислоти. Більшість бактерій самі синтезують всі необхідні їм амінокислоти (наприклад, *Escherichia coli*). Але деякі бактерії не мають такої здатності і потребують готових амінокислот, які вносять у поживне середовище. Це так звані **ауксотрофи**. Мікроорганізми можуть бути ауксотрофами не тільки за амінокислотами, а й за вітамінами, нуклеотидами та ін.

За біологічними функціями білки є ферментами, токсинами, антигенами, транспортними білками .

Нуклеїнові кислоти. Нуклеїнові кислоти — це біополімери, що складаються з великої кількості (1500-5 000 000) мононуклеотидів.

Мононуклеотиди побудовані з азотистої основи (пуринової — аденін (А) або гуанін (Г), піримідинової — урацил (У), тимін (Т), цитозин (Ц)); рибози або дезоксирибози; залишку фосфорної кислоти.

До кожного залишку рибози (дезоксирибози) приєднується одна з азотистих основ. Сполука азотистої основи з цукром називається нуклеозидом. Окремі нуклеозиди зшиваються між собою в полімер за допомогою залишків фосфорної кислоти. Нуклеозид із залишком фосфорної кислоти називається нуклеотидом. Мононуклеотиди ковалентно зв'язуються між собою фосфодієфірними зв'язками, які виникають між третім і п'ятим атомами вуглецю в молекулі рибози (дезоксирибози), тому такі зв'язки називаються 3'-5'-зв'язками.

Вуглеводи. У бактеріальній клітині міститься 12-30 % вуглеводів від її сухої маси. Представлені вуглеводи моно- та полісахаридами.

Полісахариди мікроорганізмів — це надзвичайно різноманітна група біополімерів, серед яких є сполуки, характерні як для прокаріот, так і для еукаріот (глікоген, целюлоза). Але у бактерій виявлені полісахариди, які не зустрічаються в інших організмів (тейхоеві кислоти, пептидоглікани, ліпополісахариди). Детальніше специфічні бактеріальні полісахариди будуть розглянуті в наступних розділах.

Полісахариди мікроорганізмів поділяються на внутрішньо- (ендо-) та позаклітинні (екзо-). Ендополісахариди виконують функції запасних речовин, є структурними компонентами (входять до складу клітинної стінки, цитоплазматичної мембрани), ендотоксинами та ін. Екзополісахариди утворюють капсулу або виділяються в культуральну рідину. Це речовини з молекулярною масою до 1000 000, гідрофільні, з негативним зарядом. В основному представлені гетерополісахаридами, але є і гомополісахариди, наприклад, глюкани (складаються тільки з глюкози), левани (до складу входить тільки фруктоза).

Ліпіди. Представлені у бактерій вищими жирними кислотами, фосфоліпідами, нейтральними жирами, восками. Вищі жирні кислоти. Насичені жирні кислоти широко зустрічаються у бактерій, ненасичені кислоти

представлені лише кислотами з одним подвійним зв'язком (наприклад, пальмітолеїнова). У бактерій виявлені міколові кислоти. Це (3-оксикис-лоти з довгим аліфатичним ланцюгом, вони локалізовані в клітинних стінках нокардіюта корінебактерій, зумовлюють гідрофобний характер клітин. Наявність міколових кислот, а також високий вміст інших ліпідів зумовлюють кислотостійкість деяких бактерій (мікобактерій), а також здатність використовувати гідрофобні субстрати (наприклад, парафіни нафти). Кількісний і якісний склад жирних кислот змінюється з віком культури, також залежить від умов культивування.

Фосфоліпіди (фосфогліцериди, гліцерофосфати) представлені фосфатидною кислотою, фосфатиділсерином, фосфатиділетаноламіном, фосфатиділхоліном та ін. Основна маса ліпідів міститься в цитоплазматичних мембранах і клітинних оболонках. Фосфоліпіди бактерій подібні до фосфоліпідів рослин і тварин, але відрізняються від них за складом жирних кислот. У бактеріальних фосфоліпідах переважають жирні кислоти з розгалуженим ланцюгом (15-17 атомів вуглецю), у рослинних і тваринних ліпідах — нерозгалужені кислоти. У бактерій значно рідше зустрічається лецитин (фосфатиділхолін).

Ліпіди мікроорганізмів різноманітніші, ніж ліпіди вищих організмів. Вони виконують різні функції: є запасними речовинами (поліоксибутират), структурними компонентами клітини (цитоплазматична мембрана), беруть участь у метаболізмі вуглеводів, в енергетичному обміні, входять до складу антигенів, зумовлюють кислотостійкість бактерій.

Клітинна стінка — досить твердий шар, що оточує клітину. Вона розташовується за межами клітинної мембрани та забезпечує додаткову підтримку і захист. Вона поділяється на первинну і вторинну.

Первинна стінка характерна для молодих ростучих клітин. Вона тонка, еластична, може розтягуватись і не перешкоджає розростанню клітини. Її формування відбувається на стадії телофази одночасно з утворення нових дочірніх клітин. Дуже тонка. Це нашарування целюлози, серединної пластинки з обох боків. У ранні телофази між двома клітинами формується циліндрична система волокон – фрагмопласт. Склад. з мікротрубочок. Там накопичуються пухирці А.Г. які зливаються утворюючи клітинну пластинку. Має вигляд диска підвішеного у фрагмопласт. Далі вона росте відцентрово у напрямку до стінок материнської клітини. Фрагмопласт набуває форми бочечки, що дає клітині рости латерально, доки не з'єдн. зі стінками матер. клітини. Фрагмопласт зникає, дочірні клітини відділяються. Кожний протопласт відкладає на клітинну пластинку свою первинну клітинну стінку. Кліт. стінк. перетворюється на серединну пластинку. Потім відб. нашарування з обох боків пластинки і таку структуру наз. перв. кліт. Стінкою.

Вторинна клітинна стінка формується після того, як клітина досягне своєї остаточної форми і розмірів, бо шари вторинної стінки не здатні до росту в довжину та поперечного розтягування. Утвор. способом апозиції, тобто на перв.

кліт. стінку нашаровуються порції пектину, геміцелюлози і целюлози. Тут виділяють три шари: зовнішній, середній (найбільш товстий) та внутрішній.

Питання для самоконтролю

1. Хімічний склад мікроорганізмів.
2. Білкові сполуки мікроорганізмів.
3. Нуклеїнові кислоти.
4. Вуглеводи і ліпіди.
5. Особливості живлення мікроорганізмів.

Лекція № 7

Ендоспори та інші форми спокою у бактерій

В несприятливих для росту і розмноження умовах у деяких бактерій всередині материнської клітини утворюється спеціальна клітина (ендоспора), а в життєвому циклі бактеріальної клітини настає стадія спокою.

Крім ендоспор, у деяких бактерій спостерігається утворення інших форм спокою — екзоспор і цист. Екзоспори утворюють метаноокиснювальні бактерії роду *Methylosinus* і фототрофна пурпурова бактерія *Rhodospirillum rubrum*. Екзоспори утворюються брунькуванням материнської клітини. Екзоспори значно менш термостійкі, ніж ендоспори, але стійкіші до висушування, ультрафіолетового опромінення, ніж вегетативні клітини. Екзоспори не містять дипіколінової кислоти, вони не стійкі до дії лізоциму, погано фарбуються різними барвниками.

Деякі бактерії утворюють кулеподібні товстостінні клітини — цисти. Цисти містять цитоплазму з нуклеоїдом (і гранулами полі-в-гідроксимаєляної кислоти у *Azotobacter vinelandii*), оточену цитоплазматичною мембраною та двома оболонками. Виникають у старих культурах за відсутності поживних ресурсів, при цьому в цисту перетворюється вся клітина. На відміну від вегетативних клітин, цисти містять багато ліпідів. Цисти стійкіші до висушування, механічних пошкоджень, дії лізоциму, ніж вегетативні клітини, але малорезистентні до температури. У сприятливих умовах (за наявності джерел вуглецю) цисти проростають. Цисти утворюють бактерії родів *Azotobacter*, *Bdellovibrio*, *Methylococcus*, спірохети. У метанотрофних бактерій роду *Methylococcus* цисти утворюються в несприятливих умовах, наприклад, за браку кисню. У багатьох випадках цистоутворення у цих бактерій супроводжується зміною пігментації клітин від жовтого до темно-коричневого кольору. Культура, яка не утворює цист, залишається кремовато-білою. Але у *Methylococcus thermophilus* цистоутворення не завжди супроводжується посиленням пігментації.

У міксобактерій утворення цист, які називаються міксоспорами, є закономірною стадією їх життєвого циклу. Вегета-тивні клітини міксобактерій після закінчення стадії активного бінарного поділу за умов дефіциту джерел живлення збираються разом у масу і формують різної форми плодови тіла, які складаються із слизу та міксоспор. При цьому тільки части-на клітин перетворюється на міксоспори, решта гине, лізується і є будівельним матеріалом для утворення плодових тіл.

Міксоспори мало відрізняються від вегетативних клітин, але є такі, що сильно різняться за формою, стійкістю до висушу-вання, УФ-опромінення, температури, наявністю додаткових оболонок. Такі міксоспори називаються мікроцистами.

У деяких прокариот спори є одночасно і формами спокою, і репродуктивними системами. У актиноміцетів родів *Thermoactinomyces* та *Actinobifida* спостерігається ендогенне утворен-ня спор, але у більшості родів актиноміцетів спори формуються екзогенно — артроспори, конідіеспори та ін. Артроспори фор-муються виникненням поперечних перетинок у гіфах з відді-ленням сегментів так, що утворюється ланцюжок спор. Конідіє-спори утворюються на поверхні особливих гіфів конідієносців, або конідієфорів. Спорангіоспори — спори, що формуються в спорангіях. Оскільки спорангіоспори утворюються всередині сі рангіїв, їх називають ендогенними. Спорангії утворюються на гіфах — спорангіофорах.

Форми спокою деяких ціанобактерій називають акінетами. Вони більші ніж вегетативні клітини, мають подо-вжену або сферичну форму товсту оболонку. Утворення акінет відбувається в період затримки росту культури. Кліти-на при цьому збільшується в розмірах, у цитоплазмі накопи-чуються гранули запасних речовин (глікоген, поліфосфати, ціанофіцинові гранули), а також має місце утворення карбоксисом. Одночасно потовщується пептидоглікановий шар, ущільнюється слизовий чохол. В цілому, оболонки акінет ма-ють більший вміст ліпідів і полісахаридів, а цитоплазма —менше води, ніж вегетативна клітина. У процесі формування акінет збільшується вміст ДНК, кількість рибосом, змен-шується кількість хлорофілу і фікобілінових пігментів.

Форми спокою прокариот характеризуються низьким рів-нем метаболічної активності, підвищеною стійкістю до дії неспри-ятливих факторів, здатністю тривалий час перебувати у життє-здатному стані.

Питання для самоконтролю

1. Ферменти основних біохімічних процесів у мікроорганізмів.
2. Вегетативне розмноження (поділ) як спосіб передачі і збереження спадкових властивостей.
3. Статеве розмноження і мутації мікроорганізмів.

Лекція №8

Фізико-хімічні властивості бактеріальної клітини

Сукупність фізико-хімічних властивостей залежить від видових особливостей бактерій, їх віку та умов культивування.

Броунівський рух. Притаманний нерухливим бактеріям розміром менше як 4 мкм. Це явище може пригнічуватись додаванням електролітів чи колоїдів у поживні середовища.

Показник заломлення. Встановлюється шляхом внесення бактерій у розчини з різними показниками заломлення. При мікроскопіюванні бактерії стають невидимими, коли показник заломлення клітини та середовища збігаються. Наприклад, холерний вібріон стає невидимим у фенолі з показником заломлення 1,55.

Густина мікробної клітини. Вона залежить від віку, виду бактерій і складу середовища. Золотистий стафілокок має густину 1,118, кишкова паличка — 1,094.

В'язкість мікробної клітини. У середньому вона перевищує в'язкість води у 800 разів (в'язкість гліцерину). Для визначення внутрішньоклітинної в'язкості за допомогою мікроманіпулятора в цитоплазму вводять металеву пластину. За інтенсивністю її руху судять про величину в'язкості. Контролем служить інтенсивність електромагнітного поля, яке спричиняє рух такої самої пластини у воді.

Еластичність — це здатність клітини відновлювати форму після тимчасових деформацій.

Електричний заряд поверхні бактерій. В електричному полі бактерії рухаються до катода (катафорез) або до анода (анофорез), або за певних значень рН перестають рухатись (ізоелектрична точка). Більшість бактерій мають негативний заряд.

Окисно-відновний потенціал (Eh). Виражається у вольтах (В). Аеробні мікроорганізми розвиваються на середовищах з Eh +0,2...0,4 В (за нейтрального рН). Вони легко змінюють Eh, тому що характеризуються наявністю добре розвиненої ферментної системи окиснення-відновлення (цитохромоксидази, каталаза та ін.). Анаеробні бактерії не можуть рости, якщо Eh середовища перевищує 0,2 В.

Гідрофобність і гідрофільність. Зумовлена наявністю в поверхневих структурах відповідних хімічних груп: гідрофільних — OH, NH₂, SO₃, COOH, NH₃, — C=O; гідрофобних — CH₃, C₆H₅, та ін. Більшість бактерій гідрофільні, а кислотостійкі палички — гідрофобні

Неспецифічна аглютинація (склеювання). У процесі вирощування бактерій на рідких поживних середовищах спостерігається або рівномірне помутніння середовища, або утворюється осад і над ним — більш-менш прозора надосадова рідина. В останньому разі йдеться про аглютинацію бактерій. Залежить вона від ряду факторів: ступеня гідратації полюсних іонізуючих та неіонізуючих груп, кількості солей та іонів, адсорбованих на поверхні клітини, електричного заряду.

Адсорбція іонів. Інтенсивність проникнення іонів у клітину визначається їх положенням у катіонному та аніонному рядах:

$K^+ > Na^+ > Li^+ > Mg^{2+} > Ba^{2+} > Ca^{2+} > J^- > Br^- > NO_3^- > Cl^- > \text{тарtrat}^{2-} > SO_4^{2-} > \text{цитрат}^{2-}$.

Це значить, що розчинність солей певного катіона знижується внаслідок дії іншої солі, катіон якої розміщений праворуч. Так, проникність для солей літію знижується в присутності солей магнію, барію та кальцію. В аніонному ряду проникність тим більша, чим лівіше розміщений катіон. Так, проникність аніону хлору менша, ніж бромову.

Осмотичний тиск. Завдяки наявності в клітині великої кількості вільних електролітів внутрішній тиск у клітині високий. Деякі бактерії (галофільні) здатні витримувати високий внутрішній тиск. їх називають осмофільними.

Світні бактерії. Всі організми, які світяться, мають однакову природу світіння — їх біоломінесценція являє собою хімічну реакцію, що каталізується специфічним ферментом. Біоломінесценція — це окиснення субстрату люциферину в присутності ферменту люциферази. При цьому утворюється велика кількість енергії, яка переводить проміжний продукт у збуджений стан.

Питання для самоконтролю

1. Принцип селекції (отримання нових форм) промислових мікроорганізмів.
2. Характеристика дріжджів, які використовуються у спиртовому бродінні.
3. Мікроорганізми – продуценти ферментів та їх характеристика.
4. Систематика і номенклатура бактерій.

Лекція № 9

Ферменти мікроорганізмів

Структура, властивості, синтез, функція і класифікація ферментів мікроорганізмів такі ж, як у більш складних організмів.

Однієї з особливостей ферментів мікроорганізмів є перевага адаптивних (індуцибельних) ферментів над конститутивними, що зв'язано як з малим обсягом протоплазми, так і з їх роллю головного механізму адаптації до мінливих умов зовнішнього середовища.

До особливостей ферментів мікроорганізмів у гетеротрофних мікроорганізмів може бути також віднесене виділення їх у великих кількостях у зовнішнє середовище.

Ця група так званих ектоферментів здатна викликати трансформацію (деградування) будь-яких органічних і неорганічних речовин, повертаючи вхідні в їх сполуку елементи й енергію в новий цикл круговороту речовин і енергії.

Ектоферменти здійснюють контактне і позаклітинне переварювання речовин, ушкоджують тканини своїх господарів, беруть участь у процесі самоочищення води і ґрунту від органічних залишків і ін.

Визначення ферменти мікроорганізмів використовують у бактеріологічній практиці для ідентифікації бактерій. Очищені чи вхідні до складу бактерій ферменти застосовують для одержання великої кількості необхідних промисловості і медицині препаратів і матеріалів, включаючи мікробний білок, антибіотики, вітаміни й ін.

Харчування мікроорганізмів здійснюється завдяки наявності в клітці різних ферментів, які каталізують всі життєво необхідні реакції.

Види ферментів та їх роль

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

Відповідно до каталізуючих реакцій усі ферменти розділяють на шість класів:

Оксидоредуктази - каталізують реакції окислювання-відновлення.

Трансферази - каталізують реакції переносу різних груп від донора до акцептора.

Гідролази - каталізують розриті зв'язків у субстратах із приєднанням води.

Ліази - каталізують реакції розриву зв'язків у субстраті без приєднання води чи окислювання.

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

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

Незважаючи на малі розміри мікробної клітки, розподіл у ній ферментів суворо впорядкований. Ферменти енергетичного обміну і транспорту живильних речовин локалізовані в цитоплазматичній мембрані і її похідних.

Ферменти білкового синтезу зв'язані з рибосомами. Багато ферментів не зв'язані з визначеними структурами клітки, а знаходяться в цитоплазмі в розчиненому виді.

Ферменти бактерій підрозділяються на екзо- і ендоферменти.

Ендоферменти функціонують тільки усередині клітки. Вони каталізують реакції біосинтезу й енергетичного обміну.

Екзоферменти виділяються кліткою в середовищі та каталізують реакції гідролізу складних органічних сполук на більш прості, доступні для асиміляції мікробною кліткою.

До них відносяться гідролітичні ферменти, що грають винятково важливу роль у харчуванні мікроорганізмів.

У залежності від умов утворення ферментів їх розділяють на конститутивні і індукцибельні.

Конститутивними називають ферменти, синтезовані кліткою поза залежністю від субстрату, на якому розвиваються бактерії. Наприклад, ферменти гліколізу.

Індуцибельні ферменти синтезуються тільки у відповідь на присутність у середовищі необхідного для клітки субстрату-індуктора. Він взаємодіє з репресором, інактивує його, у результаті чого включається генетичний апарат клітки і починається синтез відповідного ферменту.

Індукований синтез ферментів йде, поки в середовищі присутня індуктор. При цьому ферменти синтезуються заново у всіх клітках одночасно.

Індукторами біосинтезу є багато живильних речовин. До індуцибельних відноситься більшість гідролітичних ферментів.

Відомі також ферменти, які одержали назву аллостеричних. Крім активного центра в них маєтся регуляторний чи аллостеричний центр, що у молекулі ферменту просторово розділений з активним центром.

Аллостеричним (від греч. *allos* - інший, чужий) він називається тому, що молекули, що зв'язуються з цим центром, по будові (стерично) не схожий на субстрат, але впливає на зв'язування і перетворення субстрату в активному центрі, змінюючи його конфігурацію.

Молекула ферменту може мати трохи аллостеричних центрів. Речовини, що зв'язуються з аллостеричним центром, називають аллостеричними еффекторами. Вони впливають через аллостеричний центр на функцію активного центра: чи полегшують її, чи ускладнюють.

Відповідно аллостеричні еффектори називаються позитивними (активатори) чи негативними (інгібітори).

Аллостеричні ферменти відіграють важливу роль у тонкій регуляції метаболізму бактерій. Оскільки практично всі реакції в клітці каталізуються ферментами, регуляція метаболізму зводиться до регуляції інтенсивності ферментативних реакцій.

Деякі ферменти, так звані ферменти агресії, руйнують тканини і клітки макроорганізму, обумовлюючи тим самим поширення патогенних мікроорганізмів і їхніх токсинів в інфікованих тканинах.

До таких ферментів відносяться плазмокоагулаза, нейрамінідаза, коллагеназа, лецитиназа, гіалуронідаза і деякі інші ферменти. Гіалуронідаза стрептококів, наприклад, розщеплює гіалуронову кислоту в мембранах кліток сполучних тканин макроорганізму, що сприяє поширенню збудників і їхніх токсинів в організмі, обумовлюючи високу інвазивність цих бактерій.

Плазмокоагулаза є головним чинником патогенності стафілококів, тому що бере участь у перетворенні протромбіну в тромбін, що викликає утворення фібриногену, у результаті чого кожна бактерія покривається плівкою, що охороняє її від фагоцитозу.

Використання ферментів мікроорганізмів людиною

Ферменти мікроорганізмів, такі як лігази і рестриктази, знайшли широке застосування в біотехнології, у тому числі в генетичній інженерії, для одержання різних біологічно активних речовин, гібриди, продуковані моноклональні антитіла, а також ряд продуктів у легкій і харчовій промисловості.

Ферменти мікроорганізмів характеризують їх біологічні властивості і тому їх досліджують з метою ідентифікації бактерій. У залежності від субстрату гідролітичні ферменти прийнято поділяти на дві великі групи:

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

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

Питання для самоконтролю

1. Метаболізм мікроорганізмів.
2. Живлення мікроорганізмів.
3. Енергетичні процеси у клітинах мікроорганізмів.
4. Перетворення мікроорганізмами сполук вуглецю.
5. Перетворення мікроорганізмами сполук азоту.
6. Перетворення мікроорганізмами сполук сірки, фосфору і заліза.

Лекція № 10

Тема 1.3 Систематика прокаріот. Принципи класифікації прокаріот. Номенклатура

Прокаріотів прийнято поділяти на два царства: Еубактерії та Археї.

Еубактерії – велика група організмів, з якою в шкільній біології ознайомлюються на прикладі бактерій і ціанобактерій.

Археї – це найдавніші з прокаріотичних організмів, які мають ряд відмінностей від еубактерій. Важливий крок уперед у вивченні прокаріотів був зроблений К. Воузом, який встановив, що археї – окрема від бактерій лінія еволюційного розвитку прокаріотів.

Прокаріотичні організми – це мікроскопічні, у переважній більшості одноклітинні та колоніальні істоти. Для прокаріотів характерним є і утворення багатоклітинних структур. Вони часто прикріплюються до поверхонь і формують біоплівки, які ще називають мікробними плівками. Ці плівки можуть мати від декількох мікрометрів до половини міліметра в товщину і часто містять багато прокаріотичних видів. Ще одним прикладом найпростішої багатоклітинної організації є утворення міксобактеріями при нестачі їжі плодових тіл, що містять близько 100 тис. бактеріальних клітин. Багатоклітинні структури існують і в деяких представників ціанобактерій та актинобактерій. У

нитчастих ціанобактерій описані структури в клітинній стінці, що забезпечують контакт двох сусідніх клітин, – мікроплазмодесми.

Клітини прокариотів мають фундаментальні відмінності від еукаріотичних клітин. У прокариотів ядерний апарат не відмежований ядерною оболонкою від цитоплазми. Їхні клітини позбавлені більшості мембранних органел, притаманних еукаріотам (хлоропластів, мітохондрій, ЕПС, апарата Гольджі, лізосом, мікротілець). Генетична інформація прокариотів зберігається у вигляді кільцеподібної молекули ДНК в невеликій ділянці цитоплазми – нуклеоїді. ДНК прокариотів, яка дістала назву "бактеріальної хромосоми", зазвичай не пов'язана з білками-гістонами і регуляція роботи генів здійснюється через метаболіти.

Номенклатура - система найменувань, що застосовуються в певній галузі знань. Назва бактеріям присвоюється відповідно до правил Міжнародного кодексу номенклатури бактерій введеного з 1 січня 1980 року. Прийнята подвійна номенклатура, запропонована ще в 18 ст. К. Ліннеєм. Назва бактеріям дається на латинській мові і складається з двох слів. Перше слово позначає рід, до якого належить дана бактерія, друге - назва виду. Родова назва пишеться з великої літери, видове - з малої.

Ідентифікацію слід розглядати як частину таксономії, хоча подібно таксономії, вона пов'язана з описом організмів і заснована на порівнянні їх з відомими таксонами. Але рамки і цілі ідентифікації вже таких в таксономії. Ідентифікація - це визначення систематичного положення виділеної з будь-якого джерела культури до рівня виду або варіанту. Ідентифікація включає опис штаму і порівняння його з раніше класифікованими і мають назви штамами (при цьому проводять визначення ознак за допомогою набору тестів, попередньо обраних відповідно до досліджуваної проблемою). Організм може бути ідентифікований (тобто визначено як ідентичний відомому таксону), в тому випадку, якщо цей таксон вже відомий. Організми, які раніше не були виділені, повинні бути ідентифіковані спочатку як нові і потім класифіковані в рамках існуючої таксономії. (В разі нетотожності з відомими видами, тобто якщо виділений штам з природи (ізолят) являє собою новий вид, проводять таксономічний аналіз).

Ідентифікація - це визначення систематичного положення виділеної з будь-якого джерела культури до рівня виду або варіанту. Перший крок при ідентифікації - отримання чистої культури. Для ідентифікації бактерій використовують комплекс ознак: Морфологічна характеристика і організація клітин бактерій (форма, розміри клітини, характер з'єднання в агрегати; рухливість, наявність джгутиків і тип джгутикування; здатність утворювати спори, тип спороутворення; наявність капсули, особливості внутрішньоклітинного будови, наявність включень в клітці). Тинкторіальні ознаки зв'язані з особливостями хімічного складу клітинної стінки бактерій. До тинкторіальних ознак відноситься здатність бактерій фарбуватися за Грамом і тест на кислотостійкість.

Питання для самоконтролю

1. Поширення мікроорганізмів у природі.
2. Ферментні препарати і їх номенклатура.
3. Кінетика росту мікроорганізмів.
4. Характеристика мікроорганізмів, які викликають молочне бродіння.
5. Характеристика мікроорганізмів, що викликають маслянокисле бродіння.

Лекція № 11

Концепція виду у бактеріології. Характеристика таксонів

Стихийне уявлення про види живих істот склалося ще в давні часи. З розвитком біології як науки в додарвінівський період з'являються дві основні концепції — номіналістична та типо-логічна. Номіналісти вважають, що види реально не існують. Типо-логічну концепцію можна назвати морфологічною, оскільки в даному разі критерієм виду є морфологічна подібність.

У 40-х роках ХХ ст. завдяки роботам Ернста Майра сформувалася нова концепція виду — біологічна. Вона базується на тому, що види складаються з популяцій, вони реальні, їм притаманна внутрішня генетична інтегрованість внаслідок того, що всі особини (представники) виду мають спільну генетичну програму, яка історично склалася в ході еволюції. Згідно з біологічною концепцією вид — це група організмів, здатних до схрещування, які утворюють природні популяції і які репродуктивно ізольовані від інших груп (тобто не можуть схрещуватися з представниками інших груп).

Основними критеріями виду в біології були визнані такі: фізіологічний (генетичний критерій) — вільне схрещування всередині виду і нездатність до схрещування (репродуктивна ізоляція) з іншими видами; географічний, суть якого полягає в тому, що кожний вид має певний ареал існування; екологічний — кожний вид у межах свого ареалу займає певну зону, характеризується певним типом взаємовідносин з особинами інших видів і всередині даного виду.

Серед мікробіологів поширена думка, що види бактерій реально не існують. Це пов'язано з браком інформації про реальне існування бактерій у природі, достатньо великою фізіологічною різноманітністю ізолятів, які виділяються з природи. Крім того, стало відомо, що бактерії можуть обмінюватися генетичною інформацією за допомогою плазмід, фагів і шляхом трансформації. При цьому виявилось, що деякі кон'югативні плазмідні можуть передаватися і підтримуватися в бактеріях різних систематичних груп (наприклад, плазмідні Р-1 групи несумісності). Це дало привід багатьом мікробіологам дійти до висновку, що геноми бактерій не є захищеними і стабільними настільки, наскільки це характерно для еукаріотів. Насправді, у міру того як генетики детально вивчали процеси передачі генетичного матеріалу у бактерій, з'ясувалося, що такі висновки не відповідають дійсності. Так, до

факторів, що обмежують проникнення чужорідних генів у клітини прокариот, можна віднести: систему рестрикції-модифікації; рівень активності ферментів, відповідальних за механізми рекомбінації; систему зовнішньої мембрани, через яку чужорідна ДНК може проникнути, використовуючи тільки певні механізми, які кодуються кон'югативними плазмідами; певну послідовність генів у хромосомах.

На основі цього можна зробити висновок, що для визначення виду у бактерій цілком придатними є критерії, що характеризують вид у еукариот. Тобто вид у бактерій — це група організмів, які мають схожий набір і порядок генів на хромосомі та здатні (хоча б потенційно) обмінюватися хромосомними генами і здійснювати їх гомологічну рекомбінацію з великою частотою.

Проте таке трактування поняття виду у бактерій довго залишалося не узаконеним. Так, Дж. Стенлі та Н. Криг у вступі до дев'ятого видання Керівництва Бергі з систематики бактерій розглядають вид у бактерій як колекцію штамів, які характеризуються сукупністю багатьох спільних властивостей і суттєво відрізняються від інших штамів. Вони, правда, визнають, що для чіткішого визначення виду може бути використаний рівень гомології ДНК — показник генетичної спорідненості організму. Практичні рекомендації з цього питання викладені в рішеннях Комітету з узгодження підходів до таксономії бактерій, опублікованих ще в кінці 1987 р. Зокрема, в них зазначається, що вид є єдиною таксономічною одиницею, яка може бути визначена філогенетичне. Вид повинен включати штами з рівнем подібності ДНК—ДНК 70 % і вище. Фенотипові характеристики повинні узгоджуватися з цим визначенням і можуть не відповідати філогенетичній концепції виду тільки як виняток.

Ще одним підходом класифікації бактерій є математичний підхід, зокрема нумеричний аналіз, або нумерична таксономія. Принцип нумеричної таксономії був розроблений у XVIII ст. французьким ботаніком М. Адансоном і використовується в мікро-біології з XX ст. після створення електронно-обчислювальної техніки (ЕОМ). Згідно з принципами М. Адансона різні ознаки, які піддаються обліку, мають однакове значення для характеристики організму. Для кількісної оцінки враховують якомога більшу кількість ознак, які підбирають так, щоб вони були альтернативними, тобто, щоб їх варіанти можна було позначити знаками "плюс" і "мінус". Оцінку різних комбінацій ознак проводять на ЕОМ. При цьому кожному з ознак одного штаму порівнюють з кожною ознакою всіх інших штамів. Вважається, що подібність між двома досліджуваними штамами тим вища, чим більше відношення кількості збіжних ознак до кількості врахованих ознак. Для попарного порівняння користуються коефіцієнтом подібності (величина S). У результаті розрахунків одержують величини від 0 до 1. $S=1$ означає 100%-ну подібність, тобто ідентичність, а $S < 0,02$ — абсолютну неподібність. Слід зазначити, що і нумеричний підхід

базується на аналізі фенотипових ознак і його (як і хемотаксономічний підхід) можна вважати різновидом фенотипової систематики.

Питання для самоконтролю

1. Характеристика мікроорганізмів метанового бродіння.
2. Характеристика мікроорганізмів – продуцентів антибіотиків.
3. Мікробіологія і джерела зараження рослинної сировини мікроорганізмами.
4. Мікробіологія і джерела зараження тваринної сировини мікроорганізмами.
5. Мікроорганізми, що використовуються для виготовлення хлібобулочних виробів.

Лекція 12

Тема 2.1. Ріст мікроорганізмів. Поняття про ріст і розмноження мікроорганізмів

Ріст — це збільшення розмірів окремої особи.

Розмноження — здатність організму до відтворення.

Основним способом розмноження в бактерій є поперечний розподіл, що відбувається в різних площинах з формуванням різноманітних сполучень клітин (грона, ланцюжки, тюки і т.д.).

У бактеріальних клітин розподілу передують подвоєння материнської ДНК.

Кожна дочірня клітка одержує копію материнської ДНК. Процес розподілу вважається закінченим, коли цитоплазма дочірніх кліток розділена перегородкою. Клітки з перегородкою розподілу розходяться в результаті дії ферментів, що руйнують серцевину перегородки. Швидкість розмноження бактерій різна і залежить від виду мікробу, віку культури, живильного , середовища температури.

При вирощуванні бактерій у рідкому живильному середовищі спостерігалось кілька фаз росту культур:

1. Фаза вихідна (латентна) — мікроби адаптуються до живильному , середовищу збільшується розмір кліток. До кінця цієї фази починається розмноження бактерій.

2. Фаза логарифмічного інкубаційного росту — йде інтенсивний розподіл кліток. Триває ця фаза близько 5 годин. При оптимальних умовах бактеріальна клітка може поділитися кожні 15—30 хв.

3. Стаціонарна фаза — число знову з'явилися бактерій дорівнює числу відмерлих. Тривалість цієї фази виражається в годинник і коливається в залежності від виду мікроорганізмів.

4. Фаза відмирання — характеризується загибеллю кліток в умовах виснаження живильного і середовища нагромадження в ній продуктів метаболізму мікроорганізмів.

Якщо живильне середовище в якому культивуються мікроорганізми, буде обновлятися, то можна підтримувати фазу логарифмічного росту. При розмноженні на щільних живильних середовищах бактерії утворюють на поверхні середовища й усередині її типові для кожного мікробного виду колонії. Колонії можуть бути опуклими чи плоскими, з рівними чи нерівними краями, із шорсткуватою чи гладкою поверхнею і мати різне фарбування: від білого до чорного. Усі ці особливості (культуральні властивості) враховують при ідентифікації бактерій, а також при доборі колоній для одержання чистих культур.

Ріст бактерій залежить насамперед від того, чи є в середовищі вода, поживні речовини, фізіологічне активні речовини тощо. Ріст паличкоподібних прокаріотних клітин відрізняється від кулястих. Перші ростуть переважно в напрямку довгої вісі, а другі — рівномірно в усіх напрямках. У зв'язку з цим співвідношення між поверхнею і об'ємом у паличкоподібних клітин під час їхнього росту істотно не змінюється. У кулястих — відносна величина поверхні клітини зменшується, оскільки їхня поверхня росте пропорційно квадрату радіусу, а об'єм — пропорційно кубу.

Ріст бактерій завершується їхнім розмноженням, яке виявляється узбільшенні кількості особин мікробної популяції на одиницю об'єму.

Питання для самоконтролю

1. Шкідливі мікроорганізми і шляхи їх попадання у виробництво хлібобулочних виробів.
2. Шкідливі мікроорганізми і шляхи їх попадання у цукрове виробництво.
3. Шкідливі мікроорганізми і проникнення їх у кондитерські вироби.
4. Мікробіологічне псування готової кондитерської продукції і боротьба із цим.
5. Мікроорганізми, які використовуються у виробництві пива.
6. Шкідливі мікроорганізми і шляхи їх попадання у виробництво пива.

Лекція 13

Вивчення біомаси. Відкриті і закриті системи. Ріст бактерій у періодичній культурі

Біомаса – це поновлюване джерело енергії, органічний матеріал, який утворюється з рослин, мікроорганізмів і тварин: трав'янисті рослини, дерево, зернові культури, морські рослини, водорості, стічні води, гній і т.д. За енергоємністю та продуктивністю біомаса займає п'яте місце серед поновлюваних джерел енергії. На планеті щорічно утворюється близько 170 мільярдів тонн первинної біологічної біомаси, практично такий же обсяг і руйнується. Щорічно в світовому господарстві використовується близько 500 мільйонів тонн біомаси. Вона може бути відновлена у відносно короткий термін

Біомаса може бути конвертована (перетворена) в різні види біопалива або енергії декількома способами:

- термохімічне перетворення – отримання теплової енергії шляхом спалювання біомаси. Найчастіше для цього використовують тверде біопаливо – дерево і деревні гранули, відходи деревообробки, пелети, одержувані з тирси, лузги насіння, соломи, шкаралупи горіхів і т.д.
- біотехнологічна конверсія – в результаті розкладання біомаси виділяється суміш горючих газів, більшу частину якого (до 70%) становить метан. Якщо в природному середовищі процес розкладання може тривати досить довго, то в промислових умовах, за рахунок застосування спеціальних пристроїв (метатанків), його можна значно прискорити. В даний час в світі розроблено понад 60 різних технологій, що дозволяють отримувати біогаз шляхом переробки біомаси. Таку різноманітність можна пояснити тим, що для кожного виду вихідної сировини (відходи харчової промисловості і сільського господарства, харчові відходи, гній, стічні води і т.д.) використовується свій тип переробки, щоб домогтися максимального виробництва біогазу
- біодизель – моторне біопаливо, що отримується як результат переробки тваринних або рослинних масел. Як вихідна сировина найчастіше використовується рослинне масло – соя в США, канола в Канаді, рапсове масло в Європі, кокосове масло на Філіппінах. Біодизель – єдине альтернативне джерело енергії, яке реально може скласти конкуренцію традиційному (виготовленому з викопних ресурсів) дизельному паливу. Це повністю екологічно нейтральне паливо, при його згорянні не відбувається виділення в атмосферу діоксиду сірки, а також викидається мінімальний обсяг діоксиду вуглецю. Розлитий по необережності, біодизель не забруднює ґрунт, він практично повністю (на 99%) розкладається, а при попаданні в воду – є безпечним для риб та інших організмів.

При періодичному культивуванні клітини поміщають в закриту посудину певного обсягу, що містить живильне середовище, і задають початкові умови. Поступово збільшується щільність популяції, знижується концентрація поживних речовин і накопичуються продукти обміну, тобто умови існування мікроорганізмів змінюються. Періодичну культуру зазвичай розглядають як замкнуту систему, яка переживає різні фази розвитку. Кожна фаза характеризується певними фізіологічними параметрами: N — кількість клітин (млн/ мл); $\lg N$ — те саме в логарифмічному виразі; I — лаг-фаза; II — експоненціальна фаза; III— фаза сповільнення росту; IV — максимальна стаціонарна фаза; V — фаза відмирання I- лаг фаза або початкова фаза -час, від моменту висівання бактерій на живильне середовище й до досягнення максимальної швидкості росту. В цей період бактерії пристосовуються до умов культивування.

Тривалість цієї фази залежить від зовнішніх умов, віку і видової специфічності бактерій. Лаг-фаза скорочується (або може зовсім відсутніми), якщо активні молоді клітини перенести в свіжу середу того ж складу і тієї ж температури. П - експоненціальна, або лог-фаза. Розмноження бактерій відбувається з найбільшою швидкістю. Кількість клітин збільшується в геометричній прогресії. Внаслідок інтенсивного розмноження клітин відбувається споживання поживних речовин середовища і акумуляція продуктів обміну. Це сповільнює розмноження культури і лог-фаза переходить у наступну фазу.

Питання для самоконтролю

1. Мікроорганізми, які використовуються у виробництві безалкогольних напоїв.
2. Шкідливі мікроорганізми і шляхи їх проникнення у виробництво безалкогольних напоїв.
3. Мікроорганізми, які використовуються у виробництві молочних продуктів.
4. Шкідливі мікроорганізми і шляхи їх проникнення у виноробне виробництво.

Лекція 15

Хемостатна культура

Хемостатна або безперервна, культура являє собою міцну культуру тих чи інших мікроорганізмів. В такому випадку можливість продовження життя мікробної популяції підтримується за допомогою безперервної подачі свіжої середовища та постійного відбору мікробної біомаси або утворилися продуктів метаболізму, тобто можна культуру мікроорганізму як би зафіксувати в одній, наприклад стаціонарної, фазі росту і отримувати потрібні продукти обміну або біомасу в часі стільки, скільки потрібно. Таким чином, максимальна продуктивність в хемостатного культурі завжди вище, ніж максимальна продуктивність в періодичній культурі.

Потрібно сказати, що до 50-х років для культивування мікроорганізмів з метою їх всебічного вивчення служила проста періодична культура. Тільки з переходом до методу хемостатного культивування виявився недолік періодичної культури, яка не дає повного уявлення про всі зміни, що відбуваються в клітині, і про вплив зовнішніх чинників на що протікають в ній процеси.

Розвиток хемостатного культивування відкрило можливість управляти процесом, контролюючи зростання і поведінку мікроорганізмів, а при

необхідності втручатися в цей процес, змінюючи швидкість росту до поставлених меж шляхом впливу на таку культуру зовнішніми факторами. В даний час інтерес до безперервного культивування зростає як в нашій країні, так і за кордоном. Однак, незважаючи на переваги хемостатного культур, в біологічній промисловості при виробництві вакцин вони не отримали ще достатнього застосування через наступні випадки:

1. Технічні труднощі, в першу чергу пов'язані зі створенням асептичних умов.

2. Не у всіх випадках безперервний процес краще періодичного, оскільки при низькій питомій швидкості росту біомаси періодичний процес за ефективністю не поступається безперервному і більш вигідний, його простіше здійснити.

3. Інтенсивний біосинтез багатьох продуктів метаболізму відбувається при повільному зростанні біомаси, тому в періодичних процесах концентрація цільового продукту в культуральній рідині зазвичай вище, ніж в безперервних, що істотно підвищує ефективність стадій виділення і очищення продукту. Все це свідчить про те, що періодичні процеси в майбутньому будуть застосовуватися.

Питання для самоконтролю

1. Мікроорганізми, які використовуються у крохмале-патоковому (мелясовому) виробництві.

2. Шкідливі мікроорганізми і шляхи їх проникнення у крохмалепатокове виробництво.

3. Шкідливі мікроорганізми і шляхи їх проникнення у виробництво макаронних виробів.

Лекція 16

Пригнічення росту і загибель мікроорганізмів під дією різноманітних агентів

Певні фактори середовища можуть по-різному впливати на мікроорганізми, пригнічуючи їх життєдіяльність або викликаючи загибель мікробної популяції. Залежно від цього всі фізичні й хімічні фактори підрозділяють на мікробостатичні й мікробоцидні. Фактори зовнішнього середовища, які повністю або частково пригнічують ріст і затримують розвиток мікроорганізмів належать до мікробостатичних. Мікробоцидні фактори

викликають загибель мікроорганізмів. Залежно від концентрації або дози діючого агента, тривалості контакту й виду мікроорганізмів той самий фактор може виявляти як мікробостатичну, так і мікробоцидну дію. Отже, позитивний або негативний ефект діючого фактора обумовлений як природою самого фактора, так і властивостями мікроорганізму. Вологість. Наявність вологи обумовлює рівень процесів метаболізму в клітині, надходження до неї речовин живильного субстрату, енергію зростання й розмноження бактерій. Найменша кількість води, при якій ще можливий розвиток прокариот, становить 20-30% загальної маси організму. Менш вимогливі до умов вологості цвілеві гриби, які можуть розвиватися при вологості 10-15 %. Більшість бактерій розвиваються нормально при вологості середовища понад 20%. Стійкість бактерій до зневоднювання різна: кількість клітин *Pseudomonas* через місяць знижується в 100 разів, *Azotobacter* завдяки цистам зберігається десятки років. Дуже стійкі актиноміцети (через спори), потім гриби. Часто й в умовах глибокого зневоднення бактерії зберігають життєздатність. Так, мікобактерії туберкульозу зберігають життєздатність у висохлому мокротинні хворого понад 10 місяців, спори бацил сибірської виразки в сухому стані виживають до 10 років. Молочнокислі бактерії й дріжджі зберігають життєздатність після висушування впродовж кількох років. Висушування бактерій приводить до зневоднювання цитоплазми клітини, майже повному припиненню процесів метаболізму й в остаточному підсумку до переходу мікробної клітини до стану анабіозу. Використання висушування застосовується при зберіганні харчових продуктів. Метод сублимацій (висушування) широко застосовується для тривалого зберігання живих вакцин проти туберкульозу, чуми, віспи, грипу, при готуванні сухих молочнокислих заквасок, а також для зберігання виробничих і музейних культур мікроорганізмів. Ліофілізація – метод одержання сухих культур мікроорганізмів шляхом висушування із заморожених культур (-76°C) під високим вакуумом.

Одним з універсальних механізмів антагонізму мікроорганізмів є синтез антибіотиків, які гальмують ріст і розмноження мікроорганізмів (бактеріостатична дія) або вбивають їх (бактерицидна дія). Антибіотики (від грец. *anti* – проти, *bios* – життя) – високоактивні метаболіти мікроорганізмів, а також їх похідні синтетичні і напівсинтетичні аналоги, що вибірково пригнічують життєдіяльність багатьох бактерій, деяких вірусів і пухлин. Першими відкритими антибіотиками були пеніцилін, який був отриманий видатним англійським мікробіологом А. Флемінгом (продуцент – *Penicillium notatum*) і стрептоміцин (З. Ваксман, 1942). Ера антибіотикотерапії розпочалася в роки Другої світової війни (1942–1943), коли було здійснено промислове виробництво пеніциліну в США англійськими хіміками Г. Флори і Дж. Чейном,

які виділили його у вигляді солі у 1940 р. У Радянському Союзі пеніцилін вперше виділили акад. З.В. Єрмольєва і Т.І. Балезіна в 1942 р. (продуцент *Penicillium crustosum*). Термін антибіотики був запропонований З. Ваксманом у 1942 р. Антибіотики – речовини, які можуть бути отримані з мікроорганізмів, рослин, тваринних тканин і синтетичним шляхом, що володіють вираженою біологічною активністю відносно мікроорганізмів. Таких речовин відомо кілька тисяч, однак реально використовують значно менше. Продуцентами антибіотичних речовин є актиноміцети, цвілеві гриби й бактерії. Більшість антибіотиків, що ввійшли в клінічну практику, отримана з актиноміцетів (стрептоміцин, левоміцетин, тетрацикліни, канаміцин, еритроміцин, ністатин тощо). Продуцентами пеніцилінів і цефалоспоринів є цвілеві гриби роду *Penicillium* і роду *Cephalosporium*. Такі антибіотики, як граміцидин С і поліміксин, виділені з бактерій *Bacillus brevis* і *Bacillus polymyxa*.

Питання для самоконтролю

1. Мікроорганізми, які використовуються у спиртовому виробництві.
2. Шкідливі мікроорганізми і шляхи їх проникнення у спиртове виробництво.
3. Шкідливі мікроорганізми і шляхи їх проникнення у лікєро-горілочне виробництво.

Лекція № 17

Дія на мікроорганізми хімічних факторів

Одна й та сама хімічна речовина може проявляти вибіркову активність відносно мікроорганізмів, діючи тільки на конкретні структури або процеси мікробної клітини, і не діючи на клітини інших організмів. Такі речовини використовують у терапії для лікування захворювань мікробної етіології.

Деякі речовини діють опосередковано, тобто призводять до мікробостатичного ефекту не уражуючи саму клітину мікроорганізмів. Наприклад, при підвищенні концентрації сахарози в середовищі із клітин мікроорганізмів виходить вода, що затримує їхній ріст (мікробостатичний ефект). На цьому засноване готування джемів, варення. При зниженні концентрації цукрів мікроорганізми відновлюють свої функції, і в сприятливих умовах знову можуть рости й розвиватися.

Хімічні сполуки за механізмом дії на клітини мікроорганізмів можуть бути розділені на: 1) сполуки, що ушкоджують клітинну стінку або цитоплазматичну мембрану; 2) сполуки, що пошкоджують ферменти, які забезпечують обмін речовин, а також порушують синтез основних біополімерів клітини.

До першої групи речовин належать хімічні речовини:

- що ушкоджують структуру клітинної стінки (лізоцим і ін.);
- що порушують напівпроникність ЦПМ (феноли, хлороформ, крезолі, нейтральні мила, ПАВ або детергенти, ефіри, спирти, толуол);

Дія цих речовин пов'язане з розчиненням ліпідів ЦПМ, що призводить до порушення її проникності й руйнуванню. Етанол (70 %), викликає коагуляцію білків і виявляє мікробіцидну дію. Детергенти здатні накопичуватися в ліпопротеїнових мембранах і викликати порушення їх функцій. До другої групи належать акридини, іони важких металів, окис вуглецю, деякі активні окиснювачі – марганцевокислий калій, перекис водню, йод.

Акридини (дибензопіридин) – мають спорідненість до нуклеїнових кислот і порушують процеси клітинного поділу. Формальдегід (40% розчин формаліну) – викликає денатурацію білків. Солі важких металів – призводять до коагуляції білків, що обумовлює загибель мікроорганізмів і вірусів (найбільш дієві Hg, Cr, Pb, Zn). Іони важких металів можуть взаємодіяти з гідроксильними, сульфгідрильними, карбоксильними групами, а також аміногрупами, викликаючи зміни властивостей білків і коферментів, у результаті чого порушуються процеси дихання, синтез РНК і білків. Хімічні сполуки, що виявляють згубну дію щодо мікроорганізмів, одержали назву антисептиків. Антисептики представлені різними органічними й неорганічними сполуками. З неорганічних сполук сильними антисептиками є солі важких металів – ртуті (сулема), свинцю, срібла, цинку й ін. Солі ртуті, срібла, миш'яку проявляють сильну інгібуючу дію на ферменти мікробної клітини. Навіть у незначних концентраціях 1:1000 солі важких металів викликають загибель більшості бактерій протягом декількох хвилин. З органічних сполук антисептичну дію мають етиловий й ізопропіловий спирти (70 % розчини), фенол, крезол і їх похідні, формальдегід. Особливо широке застосування знаходить фенол (карболова кислота). Більшість мікробів гинуть від дії 1-5%-ного розчину карболової кислоти. Сильним антисептиком є формальдегід. Розчини токсичних речовин застосовують як дезінфікуючих речовин у медицині для дезінфекції різних поверхонь і одягу, у харчовій промисловості, у сільському господарстві для протруєння насіння і ґрунту.

Питання для самоконтролю

1. Шкідливі мікроорганізми і шляхи їх проникнення у рибопереробне виробництво.
2. Шкідливі мікроорганізми і шляхи їх проникнення у виробництво рослинних олій.
3. Шкідливі мікроорганізми і шляхи їх проникнення у виробництво тваринних жирів.

Лекція 18.

Тема 2.2. Живлення мікроорганізмів. Головні та мінорні елементи, які необхідні для мікроорганізмів

Надходження речовин в клітину і виділення продуктів обміну в навколишнє середовище відбувається у мікроорганізмів через всю поверхню тіла шляхом осмосу або адсорбції. На інтенсивність цих процесів надають різні чинники: різниця концентрації живильних речовин в клітині і за її межами, а також проникність для них клітинної оболонки. Осмос є дифузією речовин в розчинах через напівпроникну мембрану. Виникає осмос під дією різниці осмотичного тиску в розчинах по обидві сторони напівпроникної мембрани. Величина осмотичного тиску розчину залежить від молярної концентрації розчинених в ній речовин. Оболонка клітини проникна і затримує лише мікромолекули. Мембрана цитоплазми клітини володіє напівпроникністю: вона є осмотичним бар'єром, регулюючи надходження в клітину і вихід з неї розчинених речовин. Речовини не розчинні у воді, білки, не можуть бути використані клітиною. Вони можуть проникнути в неї лише після розщеплювання на простіші. Цей процес відбувається за допомогою екзоферментів мікробів. Таким чином, при осмотичному проникненні живильних речовин в клітину рушійною силою служить різниця осмотичного тиску між середовищем і клітиною. Таке пасивне перенесення речовин не вимагає витрати енергії і протікає до вирівнювання концентрації із зовнішнім розчином. Речовини, що поступили в клітину, включаються в реакцію конструктивного і енергетичного обміну, концентрація деяких з них буде нижча, ніж в середовищі, і надходження даних речовин можливе до повного вичерпання їх з субстрату. Якщо мікроорганізм потрапляє в субстрат, осмотичний тиск якого вищий, ніж в клітині, то цитоплазма віддає воду в зовнішнє середовище. Живильні речовини в клітину не поступають, вміст клітини зменшується в об'ємі, і протопласт відстає від клітинної оболонки. Це явище називається плазмолізом клітини. При надмірному низькому осмотичному тиску зовнішнього середовища може наступити деплазмоліз клітини – явище зворотне плазмолізу, коли унаслідок високої різниці осмотичного тиску цитоплазма переповнюється водою і приводить до розриву клітинної оболонки. Другий шлях надходження речовин в клітину – активний. Шляхом перенесення їх особливими, локалізованими в мембрані цитоплазми речовинами ферментної природи. Ці переносники володіють субстратної специфічністю. Кожен транспортує тільки певну речовину. На зовнішній стороні мембрани цитоплазми переносник адсорбує речовину, вступає з нею в тимчасовий зв'язок і віддає на внутрішній стороні її речовину, що транспортується, в цитоплазму.

Вивчення хімічного складу мікробів наочно показало, що для біосинтезу основних макромолекул їхнього тіла, з яких формується оболонка, мембрана, цитоплазма, нуклеоїд та інші компоненти, вони повинні одержувати для живлення Карбон, Оксиген, Нітроген, Фосфор, Сульфур, Калій, Кальцій, Магній, Ферум, хлориди, мікроелементи тощо.

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

Одним з найважливіших поживних елементів є Карбон. Потреби різних мікроорганізмів у джерелах цього елемента різноманітні. Фотосинтезуючі організми, що використовують сонячну енергію, а також бактерії, які одержують енергію під час окислення неорганічних речовин, використовують як головне джерело Карбону найбільш окислену його форму – CO_2 . Усі інші мікроорганізми одержують вуглець, головним чином, із органічних речовин. З останніх вони отримують також і необхідну їм енергію шляхом окислення.

За здатністю засвоювати сполуки Карбону мікроорганізми все-таки відрізняються. Деякі види мікробів настільки всеїдні, що можуть для свого живлення використовувати найрізноманітніші вуглецеві сполуки. Поряд із цим, існує також чимало спеціалізованих типів мікроорганізмів, які потребують для живлення специфічних вуглецевих сполук. Відомі мікроби, які можуть використовувати нафту, парафіни, газоподібні вуглеводні, а також гуму, капрон та інші синтетичні матеріали.

Карбон, разом з Оксигеном, Гідроеном та Нітроеном відносять до біогенних елементів.

Оксиген та Гідроген, як і Карбон, є основними компонентами клітинного матеріалу і беруть участь у окисно-відновних процесах клітини. Оксиген також є основним компонентом аеробного дихання в клітині. Джерелом обох хімічних елементів, здебільшого, є вода та органічні сполуки.

Органогенний Нітроген, в основному, є складовою білків і нуклеїнових кислот. Джерелом Нітрогену для різних видів мікроорганізмів можуть бути найрізноманітніші азотисті сполуки, а для деяких навіть молекулярний азот атмосфери. Найдоступнішим джерелом Нітрогену для багатьох мікробів є іони амонію (NH_4) і аміак (NH_3), які досить швидко проникають у мікробну клітину і трансформуються в іміно- та аміногрупи. Більшість мікробів асимілюють мінеральні форми азоту. Поряд з мінеральними джерелами азоту багато видів мікроорганізмів використовують азот органічних речовин, які водночас слугують для них також джерелом вуглецю та енергії. Деякі мікроорганізми можуть засвоювати також амінокислоти.

Сульфур є необхідним поживним елементом для мікроорганізмів. Це компонент окремих амінокислот (цистеїну, метіоніну) і вітамінів (В1, В3, Н). Він міститься у клітинах в основному у відновленій формі, зокрема у вигляді сульфідної групи (ступінь окиснення сірки 2: FeS, H₂S). Більшість мікробів може використовувати для живлення сульфати (солі сірчаної кислоти). Проте є бактерії, які потребують для свого живлення відновлених сполук сірки. Для них джерелом сірки можуть бути неорганічні сульфідні і органічні сполуки, що містять Сульфур.

Фосфор входить до складу дуже важливих органічних сполук мікробної клітини: нуклеїнових кислот, фосфоліпідів, коферментів, АТФ тощо. Без фосфору мікроорганізми не можуть рости і розвиватися. На відміну від Нітрогену і Сульфуру, фосфор входить до органічної речовини тільки в окисленому стані (H₃PO₄). Фосфор надходить у мікробну клітину у вигляді молекул фосфорної кислоти і в незмінній формі бере участь у різних біологічних процесах.

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

Магній входить до складу хлорофілу у зелених і пурпурових сіркобактерій, ціанобактерій, а також є активатором низки ферментів. У клітині перебуває переважно в іонному стані.

Кальцій – кофактор ферментів, входить до складу екзоферментів (амілаз, протеаз). Ca²⁺-дипіколінат є важливим компонентом ендоспор.

Ферум також належить до незамінних поживних елементів. Мікроорганізми використовують його в дуже малих кількостях. Однак нормальний розвиток їх без цього елемента неможливий, оскільки залізо входить до гемінового угруповання, яке є коферментом для низки важливих дихальних ферментів (цитохроми, цитохромоксидаза, каталаза, пероксидаза тощо). Джерелом заліза для мікробів можуть бути сульфати (FeSO₄) та інші його солі.

Крім названих поживних елементів, мікроорганізмам також потрібні для живлення і мікроелементи (Бор, Цинк, Купрум, Манган, Молібден та ін.). Вони засвоюються мікробами в дуже малій кількості, але, незважаючи на це, нормальний розвиток мікробів без них неможливий, оскільки вони входять до складу багатьох ферментів, а також є їхніми активаторами.

Питання для самоконтролю

1. Мікроорганізми, які використовують у процесі соління і квашення.
2. Шкідливі мікроорганізми і шляхи їх проникнення у виробництво квашених овочів.

Лекція 19

Механізми синтезу АТФ

Аденозинтрифосфорная кислота-АТФ - обов'язковий енергетичний компонент будь-якої живої клітини. АТФ також нуклеотид, що складається з азотистої основи аденіну, цукру рибози і трьох залишків молекули фосфорної кислоти. Це нестійка структура. В обмінних процесах від неї послідовно відщеплюються залишки фосфорної кислоти шляхом розриву багатою енергією, але нестійкою зв'язку між другим і третім залишками фосфорної кислоти. Відрив однієї молекули фосфорної кислоти супроводжується виділенням близько 40 кДж енергії. В цьому випадку АТФ переходить в аденозіндіфосфорная кислоту (АДФ), а при подальшому відщепленні залишку фосфорної кислоти від АДФ утворюється аденозинмонофосфорная кислота (АМФ).

АТФ синтезується в мітохондріях в кілька етапів. Перший з них - підготовчий - протікає східчасто, з залученням на кожному ступені специфічних ферментів. При цьому складні органічні сполуки розщеплюються до мономерів: білки - до амінокислот, вуглеводи - до глюкози, нуклеїнові кислоти - до нуклеотидів і т. Д. Розрив зв'язків у цих речовинах супроводжується виділенням невеликої кількості енергії. Утворилися мономери під дією інших ферментів можуть зазнати подальший розпад з утворенням більш простих речовин аж до діоксиду вуглецю і води.

Механізм синтезу:

I етап - підготовчий: складні органічні речовини під дією травних ферментів розпадаються на прості, при цьому виділяється тільки тепла енергія.

Білки -> амінокислоти

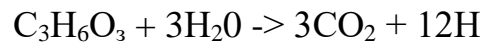
Жири-> гліцерин і жирні кислоти

Крохмаль -> глюкоза

II етап-гліколіз (безкисневому): здійснюється в гіялоплазме, з мембранами не пов'язаний; в ньому беруть участь ферменти; розщепленню піддається глюкоза: У дріжджових грибів молекула глюкози без участі кисню перетворюється в етиловий спирт і діоксид вуглецю (спиртове бродіння).

У інших мікроорганізмів гліколіз може завершуватися освітою ацетону, оцтової кислоти і т, д. У всіх випадках розпад однієї молекули глюкози супроводжується утворенням двох молекул АТФ. В ході безкисневого розщеплення глюкози у вигляді хімічного зв'язку в молекулі АТФ зберігається 40% енергії, а решта розсіюється у вигляді теплоти.

III етап-гідроліз (кисневий): здійснюється в мітохондріях, пов'язаний з матриксом мітохондрій і внутрішньої мембраною, в ньому беруть участь ферменти, розщепленню піддається молочна кислота:

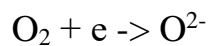


CO₂ (діоксид вуглецю) виділяється з мітохондрій в навколишнє середовище. Атом водню включається в ланцюг реакцій, кінцевий результат яких - синтез АТФ. Ці реакції йдуть в такій послідовності:

1. Атом водню Н за допомогою ферментів-переносників надходить у внутрішню мембрану мітохондрій, що утворює Крісті, де він окислюється: Н-е -> Н +

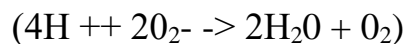
2. Протон водню Н + (катіон) виноситься переносниками на зовнішню поверхню мембрани крист. Для протонів ця мембрана непроникна, тому вони накопичуються в межмембранному просторі, утворюючи протонний резервуар.

3. Електрони водню е переносяться на внутрішню поверхню мембрани крист і тут же приєднуються до кисню за допомогою ферменту оксидази, утворюючи негативно заряджений активний кисень (аніон):

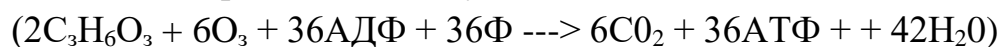


4. Катіони і аніони по обидві сторони мембрани створюють різноманітне заряджене електричне поле, і коли різниця потенціалів досягне 200 мВ, починає діяти протонний канал. Він виникає в молекулах ферментів АТФ-синтетаз, які вбудовані у внутрішню мембрану, що утворює Крісті.

5. Через протонний канал протони водороду Н + спрямовуються всередину мітохондрій, створюючи високий рівень енергії, велика частина якої йде на синтез АТФ з АДФ і Ф (АДФ + Ф -> АТФ), а протони Н + взаємодіють з активним киснем, утворюючи воду і молекулярний O₂ :



Таким чином, O₂, що надходить в мітохондрії в процесі дихання організму, необхідний для приєднання протонів водню Н. При його відсутності весь процес в мітохондріях припиняється, так як електронно-транспортна ланцюг перестає функціонувати. Загальна реакція III етапу:



В результаті розщеплення однієї молекули глюкози утворюються 38 молекул АТФ: на II етапі - 2 АТФ і на III етапі - 36 АТФ. Утворилися молекули АТФ виходять за межі мітохондрії і беруть участь у всіх процесах клітини, де необхідна енергія. Розщеплюючись, АТФ віддає енергію (одна фосфатная зв'язок укладає 40 кДж) і у вигляді АДФ і Ф (фосфату) повертається в мітохондрії.

Питання для самоконтролю

1. Шкідливі мікроорганізми і шляхи їх проникнення у чайне виробництво.
2. Шкідливі мікроорганізми і шляхи їх проникнення у виробництво тютюнових виробів.
3. Шкідливі мікроорганізми і шляхи їх проникнення у виробництво парфумів і косметики

Лекція 20

Поняття субстрату. Механізми поглинання субстратів

Субстрат - вихідна речовина, що перетворюється ферментом в результаті специфічного фермент-субстратного взаємодії в один або кілька кінцевих продуктів. Після закінчення каталізу і вивільнення продукту реакції активний центр знову стає вакантним і може пов'язувати інші молекули субстрату.

Для того щоб екзогенний субстрат міг бути використаний клітиною, він повинен потрапити у клітину, тобто пройти через її пограничні шари. Клітинна стінка, як правило, не є суттєвою перешкодою для невеликих молекул та іонів, але вона затримує макромолекули, молекулярна маса яких перевищує 600 Да. Пограничним шаром, відповідальним за транспорт поживних речовин, є плазматична мембрана. Перенесення поживних речовин через плазматичну мембрану є специфічним: можуть поглинатися тільки ті речовини, для яких є відповідна транспортна система. За невеликими винятками, транспорт залежить від наявності специфічних пермеаз чи транслоказ. Це мембранні білки, сама назва яких вказує на те, що їм притаманні властивості ферментів, тобто вони можуть індукуватися субстратом, є специфічними щодо субстрату і утворюються в таких умовах, в яких є можливим синтез білків. Існує ряд механізмів транспорту поживних речовин у клітину. Деякі з них здатні забезпечити тільки транспорт, але не накопичення речовини в клітині. їм можна протиставити процеси активного транспорту, які приводять до акумуляції речовин всередині клітини. При порівнянні способів, за допомогою яких речовини з навколишнього середовища проходять через плазматичну мембрану у цитоплазму, можна виділити чотири різних механізми: пасивну дифузію, полегшену дифузію, активний транспорт і перенесення груп.

Пасивна дифузія – речовина, яка переноситься, не взаємодіє специфічно з компонентами клітинної мембрани. Вона проходить через мембрану, поки не встановиться рівновага між концентрацією всередині та зовні. Оскільки в природі концентрація більшості метаболітів у клітині є вищою, ніж назовні, то очевидно, що транспорт шляхом пасивної дифузії не є дуже поширеним і обмежений невеликою групою речовин, а саме газами (кисень), водою та деякими іонами. Шляхом простої дифузії у клітину проникають інгібітори, отруйні та інші невластиві клітині сторонні речовини. У *E. coli* іони натрію надходять у клітину шляхом пасивної дифузії, у той час, як іони калію та магнію транспортуються активно. Проте інші бактерії використовують системи активного транспорту натрію.

Полегшена дифузія — це процес, схожий з пасивною дифузією у тому, що жоден з цих процесів не потребує метаболічної енергії, обидва вони є легко

оборотними, так що концентрація речовини у клітині та середовищі є однаковою. На відміну від пасивної, полегшена дифузія містить у собі транспорт відповідної речовини за допомогою специфічного мембранного переносника. Речовина, яка транспортується, зв'язується з переносником назовні мембрани та вивільнюється всередині клітини. Отже, транспорт є специфічним щодо субстрату. Еритроцити та дріжджові клітини шляхом полегшеної дифузії поглинають цукри. У аеробних бактерій такий механізм транспорту не є суттєвим, але у анаеробів він, очевидно, бере участь у поглинанні деяких речовин і виділенні продуктів бродіння.

Активний транспорт приводить до насичення клітини субстратом за значно нижчої концентрації цього субстрату в середовищі, ніж у дифузійних процесах. Спостерігалось концентрування речовини в кілька сотень разів. Отже, активний транспорт дає клітинам можливість рости на середовищах з низькою концентрацією субстратів — ситуація, звичайна в природі.

Процес перенесення – цей процес відрізняється від активного транспорту тим, що субстрат з'являється всередині клітини у хімічно модифікованій формі — зазвичай у вигляді фосфатного ефіру. У багатьох мікроорганізмів саме так транспортуються цукри. Джерелом енергії у цьому разі є фосфоенолпіруват (енергія, яка виділяється при переведенні ФЕП у піруват, використовується для транспортних процесів).

Питання для самоконтролю

1. Епіфітна мікрофлора.
2. Мікрофлора свіжих плодів і овочів.
3. Патогенні мікроорганізми.
4. Харчові інфекції та отруєння, як наслідок попадання в організм мікрофлори.

Лекція № 21

Методи стерилізації

Стерилізація (від латів. *sterilis* – безплідний, слово «стерилізація» в переказі означає знепліднення) – це знищення мікроорганізмів в різних об'єктах шляхом дії на них чинниками, згубними для мікробів.

Залежно від того, за допомогою яких факторів вбивають мікроорганізми, всі способи стерилізації розділяють на фізичні, механічні та хімічні; або на термічні та холодні.

Термічна стерилізація заснована на знищенні мікробів за допомогою високих температур. Знищення мікробів високими температурами легко здійснимо і широко використовується в практичній діяльності людини та найчастіше застосовується в мікробіологічній практиці. При цьому потрібно

пам'ятати, що у вегетативних (неспорових) клітин денатурація білків і загибель починається вже при температурі 56–60°C. Більш терmostійкі спори гинуть в сухій атмосфері при температурі 160°C протягом 1–2 г., а у вологій середовищі загибель спор відбувається при температурі 112–120°C протягом 20–30 хв.

Низькі негативні температури не вбивають, а лише затримують розвиток мікроорганізмів. Холодні способи стерилізації включають різноманітні прийоми знищення мікроорганізмів. Називають їх холодними умовно, щоб підкреслити, що вони не пов'язані з дією високих температур. До цих способів відносять хімічну стерилізацію або дезинфекцію, різні фізичні методи стерилізації (окрім використання температурного фактору) та механічне звільнення від мікроорганізмів.

До методів термічної стерилізації відносяться:

1) фламбірування, 2) кип'ятіння, 3) стерилізація сухим жаром, 4) стерилізація текучою парою, 5) стерилізація парою під тиском, 6) пастеризація, 7) дробна стерилізація та тиндалізація.

1. Фламбірування (від нім. *flamme* — полум'я) — прожарювання в полум'ї дрібних металевих або скляних предметів. Найбільш швидкий і доступний метод стерилізації. Проте його використання обмежується тільки терmostійкими матеріалами. В такий спосіб стерилізують бактеріологічні петлі, металеві пінцети, скляні шпателі, палички, скельця, фарфорові ступки та інші інструменти. При прожарюванні згорають всі мікроорганізми (вегетативні та спорові форми). Це швидкий і надійний спосіб стерилізації. Після прожарювання охолоджені предмети не можна класти на стіл; їх слід тримати так, щоб вони не торкалися інших предметів.

2. Кип'ятіння є одним з найпростіших способів стерилізації. Проводиться в стерилізаторі (рис. 1) — металевій прямокутній коробці з кришкою і сіткою на дні для розташування предметів, що стерилізуються. Наливають в нього воду та нагрівають до кипіння. Кип'ятіння триває від 15–30 хв. до 2 г. при температурі біля 100°C.

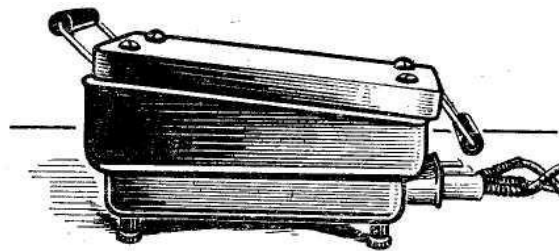


Рисунок 7 – Стерилізатор

Кип'ятінням стерилізують дрібні металеві або скляні предмети — шприци, голки, скляні трубки та ін. При цьому гинуть вегетативні форми мікроорганізмів і частина спор. Кип'ятінням у дистилаті стерилізують мембранні фільтри. Режим стерилізації для мембранних фільтрів 30–60 хв. з моменту енергійного закипання води. У мікробіологічній практиці таким засобом стерилізації користуються рідко у зв'язку з тим, що тривале кип'ятіння може пошкодити

оброблюваний матеріал, а скорочення часу кип'ятіння може не забезпечити стерильності.

3. Стерилізація сухим жаром. Проводиться гарячим повітрям в печі Пастера або сушильній шафі. Піч Пастера є шафою з подвійними стінками, покритою зовні азбестом для теплоізоляції. Усередовищані шафи розташовані металеві полиці з отворами, на які поміщають матеріал, що стерилізується. Стерилізація проводиться при температурі 160 – 170°C протягом 1,5–2 г.

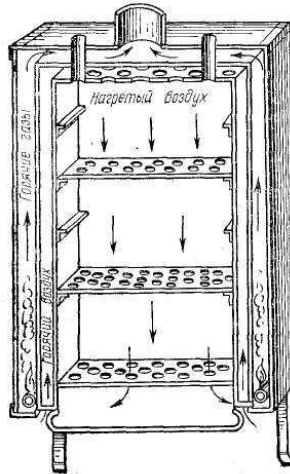


Рисунок 8 – Піч Пастера

4. Стерилізація текучою парою. Проводиться гарячим вологим повітрям в апараті Коха. У нижню частину металевого циліндру наливають воду, над нею розташовують полицю з отворами і матеріал, що стерилізується. Апарат щільно закривають конічною кришкою з отвором усередовищані для виходу пари і нагрівають на вогні. Коли вода закипить, гаряча водяна пара з температурою біля 100°C «потече» сильним струменем з отвору кришки. З цієї миті відмічають час початка стерилізації. Стерилізація текучою парою триває від 45 хв до 1,5 г залежно від об'єму матеріалу, що стерилізується. В такий спосіб стерилізують поживні середовища, які не можна нагрівати вище 100°C, наприклад м'ясопептонний желатин (при температурі вище 100°C він розріджується та не застигає). Цей спосіб стерилізації не достатньо надійний — повністю гинуть лише вегетативні форми мікроорганізмів, а спори зберігаються. Для досягнення повної стерилізації середовища в апараті Коха застосовують дробну стерилізацію.

5. Стерилізація парою під тиском. Проводиться насиченою водяною парою в автоклаві (рис.4). Автоклави бувають різної конструкції, але засновані на одному принципі. Це металевий двостінний казан, здатний витримувати високий тиск. Внутрішня частина казана — камера стерилізації, в яку поміщають матеріал, що стерилізується, оточена водопаровою камерою, яка має кран для виходу повітря і пари. При стерилізації у водопарову камеру наливають воду до необхідного рівня. Предмети у камері слід розміщувати не дуже щільно, оскільки пара повинна вільно минати між ними. Кришка автоклава герметично

закривається. Найпоширеніші режими стерилізації такі: 15–45 хв. при надлишковому тиску 0,5 атм (температура досягає 110 – 112 °С); 15–45 хв. при надлишковом тиску 1,0 атм (температура досягає 121 °С); 10–30 хв при надлишковому тиску 1,5 атм (температура досягає 126 °С). Після закінчення часу стерилізації нагрів припиняють, відкривають паровий клапан і спускають пару. Стерилізують пором під тиском поживні середовища, скляний посуд, інструменти й ін. Автоклавування є швидким і надійним способом стерилізації, при якому гинуть всі форми мікроорганізмів, навіть найстійкіші спори.

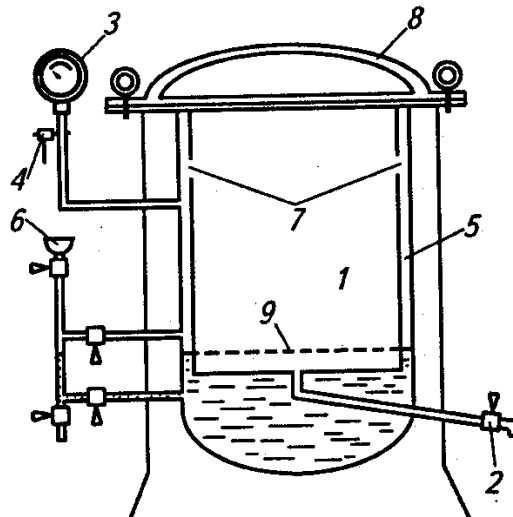


Рисунок 9 – Автоклав

6. Пастеризація. Цей прийом часткової стерилізації названий на честь фран-цузького вченого Л. Пастера. Спосіб полягає в тому, що рідину, налиту в стерильний посуд, прогривають на водяній бані при температурі 60–90°С протягом 10–30 хв. Застосовують пастеризацію для середовищ, які змінюють свої фізико-хімічні властивості при високих температурах. У харчовій промисловості пастеризують молоко, вершки, вино, пиво, соки й ін. При цьому повністю зберігаються вітаміни і смакові якості продуктів. Пастеризовані продукти тривалому зберіганню не підлягають, оскільки при цьому способі стерилізації гинуть лише вегетативні форми мікроорганізмів, а спори залишаються. У лабораторній практиці в цей спосіб відділяють види мікроорганізмів, що утворюють спори від неспоротворних. У лабораторних умовах пастеризацію проводять або на водяній лазні, або в термостаті при наступних режимах: 60–70 °С 30 хв; 80 °С 10–15 хв.

7. Дробна стерилізація (тиндалізація або стерилізація текучою парою) використовується для стерилізації поживних середовищ і розчинів, які псуються при використанні температур вище 100 °С. Матеріал стерилізується, в декілька прийомів. Дробним може бути кип'ятіння або стерилізація текучою парою в апараті Коха. Метод розроблений Дж.Тиндалем. Матеріал стерилізують при 100 °С 10 хв. За цей час всі вегетативні клітини гинуть, життєздатними залишаються тільки спори. Потім рідину охолоджують до температури, оптимальної для

проростання спор (30 °C), і через декілька годин знову пропускають пару. Двох-трьох подібних циклів зазвичай буває достатньо для знищення всіх спор. Тиндалізацію зазвичай проводять 3 дні по 30 хв щодня, а в перервах залишають матеріал при кімнатній температурі. Це робиться для провокації зростання спор у вегетативні форми і їх знищення при подальших обробках, що підвищує надійність цих способів.

Інший різновид дробної стерилізації (дробна пастеризація) проводиться у водяній бані при температурі 56–58°C протягом 1 г з 5–6-кратним повторенням через 24 г. В інтервалах між прогріваннями матеріал витримується при кімнатній температурі. Тиндалізацією стерилізують поживні середовища бідні мікроорганізмами, а також середовища, що містять речовини, які легко руйнуються і денатурують при температурі вище 60°C (білки, вітаміни).

При холодній стерилізації використовують хімічні речовини або діють на об'єкт чинниками фізичної природи.

Хімічні методи припинення життєдіяльності мікроорганізмів ґрунтовані на використанні дезинфектантів і антисептиків, що мають неспецифічний ефект, або використанні антибіотиків і синтетичних антимікробних препаратів з вибірковою протимікробною дією. Загибель мікроорганізмів при дезинфекції відбувається в основному в результаті гідролізу компонентів клітин, коагуляції білків, інактивації клітинних ферментів. Метод хімічної стерилізації застосовують при дезинфекції рук, робочого столу, відпрацьованих скелець і т.д. До антисептиків або дезинфікуючих засобів відносяться мило, деякі органічні барвники, солі важких металів, окисники (хлор, йод, перекис водню, перманганат калія), формалін, спирти (60–70 % водні розчини), кислоти, антибіотики, газоподібні речовини (формальдегід, окис етилену, озон) і ін. Стійкість мікроорганізмів до їх дії може суттєво змінюватися залежно від таких факторів, як концентрація активного компоненту, тривалість контакту, рН, температура, вологість.

Фізичні методи стерилізації: стерилізація ультрафіолетовими променями, радіоактивним випромінюваннями, ультразвуком, струмом ультрависокої частоти і ін. Ці прийоми широко використовують в медицині. Стерилізація з використанням опромінення придатна для термолабільних матеріалів. Ультрафіолетові промені використовуються для стерилізації центрифужних пробірок, наконечників для піпеток, матеріалів з термолабільної пластмаси. Час опромінення визначається потужністю лампи, часом дії, ступенем і видовим складом мікроорганізмів забрудненого матеріалу. Вегетативні форми чутливіші до опромінення, чим спори, які в 3 – 10 разів більш стійкі. Від УФ-випромінювання мікроорганізми можуть бути захищені органічними речовинами, пилом або іншими захисними оболонками. Обмеженням при використанні даного методу стерилізації є низька проникаюча здатність УФ-променів і висока поглинаюча здатність води і скла. Рентгенівське і γ -опромінення також ефективно для стерилізації пластмас, харчових продуктів,

але вимагає строгого дотримання правил безпеки. Найбільш чутливі до γ -опромінення вегетативні клітки бактерій, потім йдуть цвілеві гриби, дріжджі, бактерійні спори і віруси. γ -Опромінення використовується для стерилізації лікарняного приладдя, антибіотиків, вітамінів, гормонів, стероїдів, пластмасового разового устаткування, шовного і перев'язувального матеріалу. Для знезараження повітря використовують бактерицидні лампи. Зважаючи на можливу несприятливу дію ультрафіолетових променів на організм людини бактерицидні лампи включають лише за відсутності людей в приміщенні.

Механічний метод стерилізації (стерилізація фільтруванням) застосовується в тих випадках, коли субстрати не витримують нагрівання і дії хімічних речовин (білки, сироватки, антибіотики, вітаміни, леткі речовини і ін.). Спосіб полягає в пропусканні рідин і газів через спеціальні дрібнопористі фільтри (бактерійні), діаметр пір яких не перевищує 0,45 – 0,2 мкм. Фільтри затримують мікроорганізми. Для пропускання розчину через фільтр потрібний вакуум або тиск. Існують два основні типи фільтрів – глибинні і мембранні. Глибинні складаються з волокнистих або гранульованих матеріалів, які спресовані, звиті або зв'язані в лабіринт проточних каналів. Частки затримуються в них в результаті адсорбції і механічного захоплення в матриці фільтру. Мембранні фільтри мають безперервну структуру і захоплення ними часток визначається розміром пір. Фільтри містять різні природні (коалін, азбест, целюлоза) або синтетичні (похідні целюлози) матеріали. До таких дрібнопористих фільтрів, у яких розміри пір менше розмірів бактерій, відносяться фільтри Шамберлана (фільтрувальні свічки) з каоліну, пластинчасті азбестові фільтри Зейтца. Мембранні фільтри виготовляють з колодія, ацетату чи нітрату целюлози та ін. матеріалів.

Фільтри закріплюються в спеціальному утримувачі (приборі Зейтца), який вставляється в приймач фільтрату — колбу Бунзена. Фільтр Зейтца автоклавують в зібраному вигляді. Перед стерилізацією фільтр із утримувачем, гумовою пробкою і колбою-приймачем загортають в папір. У відповідну трубку, яка буде приєднана до вакуумного насоса, вставляють ватний тампон.

Питання для самоконтролю

1. Мікрофлора охолоджених і заморожених овочів і фруктів.
2. Мікробіологічні основи виноробства.
3. Бактеріальні ентомопатогенні препарати.
4. Ентомопатогенні гриби для захисту рослин.
5. Патогенні віруси для захисту рослин.

Лекція № 22

Типи бродіння. Загальна характеристика процесу бродіння

Бродіння — це такий метаболічний процес, у якому регенерується АТФ, а продукти розщеплення органічного субстрату можуть служити одночасно і донорами, і акцепторами водню. Органічний субстрат є джерелем енергії та вуглецю. Реакції синтезу АТФ є реакціями окиснення. Від окисненого вуглецю клітина позбавляється, виділяючи CO_2 . Окремі етапи окиснення являють собою дегідрування, за якого водень переноситься на НАД. Акцепторами водню, який міститься у вигляді НАДН, є проміжні продукти розщеплення субстрату. За рахунок НАДН ці проміжні продукти відновлюються, а продукти відновлення виводяться з клітини.



Рисунок 10 – Загальна характеристика процесу бродіння

Розрізняють:

- Спиртове бродіння — ферментативний процес неповного окиснення гексоз з утворенням спирту.
- Молочнокисле бродіння — процес анаеробного окиснення вуглеводів, кінцевим продуктом при якому виступає молочна кислота
- Метанове бродіння — метод біотехнології, здатний перетворювати більшість полімерних та інших органічних матеріалів на метан і вуглекислий газ за анаеробними умовами.
- Пропіоновокисле бродіння — шлях анаеробного окиснення вуглеводів, що здійснюється бактеріями родини *Propionibacteriaceae*,

кінцевими продуктами є пропіонова та оцтова кислоти, а також вуглекислий газ.

- Маслянокисле бродіння — шлях анаеробного окиснення вуглеводів, що здійснюється бактеріями родів *Clostridium*, *Butyrivibrio*, *Eubacterium* та *Fusobacterium*, кінцевими продуктами є масляна та оцтова кислоти, етанол, ацетон, ізопропанол, бутанол, а також вуглекислий газ і водень.
- Лимоннокисле бродіння — окиснення вуглеводів, деяких спиртів і органічних кислот до лимонної кислоти плісневими грибами з родів *Aspergillus* і *Penicillium*.
- Оцтове бродіння – це процес окиснення оцтовими бактеріями етилового спирту воцтову кислоту, який проходить у 2 стадії.

Спиртове бродіння протікає під впливом мікроорганізмів і відіграє важливу роль у виробництві спирту, вина, хлібобулочних виробів. Поряд з основними продуктами, які одержують під час спиртового бродіння, спирту і диоксидом карбону, в результаті бродіння утворюються такі сполуки, як гліцерин, янтарна кислота, оцтова кислота, ізоаміловий та ізопропіловий спирти та інші. Ці продукти суттєво впливають на смак і аромат харчових продуктів.

Молочнокисле бродіння відбувається під час одержання кефіру та інших молочнокислих продуктів, сиру, квашенні капусти. Відомі дві групи молочнокислих бактерій. У першу з них входять гомоферментативні бактерії, які утворюють тільки молочну кислоту. Молочнокислі бактерії другої групи (гетероферментативні бактерії) утворюють, крім молочної, ще й оцтову кислоту, а також етиловий спирт (нерідко в досить значних кількостях), вуглекислий газ, мурашину кислоту та інші продукти. Співвідношення між цими продуктами залежить від багатьох умов (температура, рН середовища та інш.). Найчастіше це обумовлено спільною діяльністю молочнокислих бактерій із дріжджами. Такого роду спільні «закваски» часто створюються штучно і широко використовуються при випіканні хлібу, у виробництві хлібного квасу і ряду молочнокислих продуктів (сир, кефір, кисляк, кумис тощо). Широко застосовується молочнокисле бродіння у виробництві молочної кислоти, яка використовується у ряді галузей харчової промисловості.

В результаті маслянокислого бродіння утворюється масляна кислота. Цей процес відбувається під час тривалого зберігання харчових продуктів. Масляна кислота має гіркий присмак. Накопичення цієї кислоти у складі продуктів погіршує їх смакові якості. Лимоннокисле бродіння відбувається під дією пліснявих грибків. Промислове одержання лимонної кислоти відбувається шляхом зброджування грибом *Aspergillus niger* розчину сахарози.

Питання для самоконтролю

1. Бактеріальні добрива.
2. Кормові препарати вітаміну В2.

3. Кормові препарати вітаміну В12.

4. Мікробіологічне виробництво префіксу та їх склад.

Лекція 23

Тема 2.3. Обмін речовин мікроорганізмів. Фотосинтезуючі пурпурові і зелені бактерії

Обмін речовин і енергії – або метаболізм – це сукупність хімічних і фізичних перетворень речовин і енергії, які відбуваються у живому організмі і забезпечують його життєдіяльність. Обмін речовин і енергії складає єдине ціле і підпорядковується універсальному закону збереження матерії і енергії. Метаболізм забезпечує гомеостаз організму, забезпечує організм енергією та ряду інших проявів життя. Обмін речовин складається із процесів асиміляції і дисиміляції. Асиміляція (анаболізм) – процес засвоєння організмом речовин, за якого поглинається енергія. Дисиміляція (катаболізм) – це процес розпаду складних органічних сполук, який проходить із виділенням енергії.

Під фізіологією мікроорганізмів розуміють хімічний склад мікроб-ної клітини і різні процеси, пов'язані з її життєдіяльністю. Мікробні клітини майже цілком складаються з води (біля 80 %). Лише 20 % вмісту клітини припадає на сухі речовини. Якщо їх прийняти за 100 %, то хімічний склад клітини буде такий: вуглецю - 46-50%, кисню – 30%, водню - 6-7%, азоту - 7-14%, мінеральних речовин - 2-14%. До мінеральних речовин належать фосфор, калій, натрій, магній, сірка, кальцій, хлор, залізо, цинк, бор, хром та інші. Усе необхідне клітина одержує разом з білками, жирами, вуглево-дами та іншими речовинами.

Мікроорганізми можуть засвоювати вуглець з неорганічних та органічних вміщуючи сполук, в зв'язку з чим їх поділяють на дві великі групи: автотрофи і гетеротрофи.

Автотрофи (хемолітотрофи, фотолітотрофи) засвоюють вуглець з диоксиду вуглецю (CO₂) повітря та утворюють органічну речовину за допомогою енергії якої, що звільнилася в процесі окислення деяких мінеральних сполук (хемосинтез), або енергії Сонця (фотосинтез). Явища хемосинтезу у хемолітотрофів вперше (1887 р.) встановлено російським мікробіологом С.Н.Виноградським при вивченні безфарбних серобактерій, нітрифікуючи та інших мікроорганізмів. Енергія, що утворюється в процесі окислювальних реакцій, може бути використана бактеріями для засвоєння вуглеця та утворення органічних речовин.

Гетеротрофи (хемоорганотрофи) – мікроорганізми, які для засвоєння використовують вуглець з готових органічних сполук. Ця група найбільш поширена по своєму складу. Вона включає до себе як сапрофіти, так і паразити. Сапрофіти, або метатрофи споживають мертву тканину тварин і рослин. Паразити або паратрофи, використовують для харчування органічні речовини

живих організмів та ведуть паразитичний образ життя. Це збудники інфекційних хвороб.

Анаболізм (конструктивний обмін) і катаболізм (енергетичний обмін) звичайно проходять одноразово. Вони взаємозв'язані і являються складовими єдиного процесу метаболізму.

Споживні речовини поступають в мікробну клітину різними засобами. Найбільш простий з них – пасивна дифузія, за допомогою якої переміщення речовин відбувається завдяки різниці їх концентрацій по обидві сторони цитоплазматичної мембрани. Завдяки пасивній дифузії через цитоплазматичну мембрану проходить вода і деякі речовини. Інтенсивність такої дифузії невелика. Вона здійснюється без втрати енергії.

Пурпурові бактерії. Спільним для представників порядку *Rhodospirillales* є те, що їх фотосинтетичний апарат (світлозбирні системи та реакційні центри) міститься на внутрішніх мембранах (тилакоїдах), які утворюються з інвагінацій плазматичної мембрани. Тилакоїдні структури можуть бути везикулярні, трубчасті та пластинчасті (ламельярні). Типовим хлорофілом для цих бактерій є хлорофіл *a*. Фіксація CO_2 відбувається у циклі Кальвіна. Пурпурові бактерії здатні використовувати органічні спо-луки як донори водню та/або джерела вуглецю. За здатністю використовувати як донор електронів елементну сірку пурпурові бактерії поділяються на сіркові та несіркові. Типовим видом пурпурових сіркових бактерій є *Chromatium vinosum*, несіркових — *Rhodospirillum rubrum*. Сіркові бактерії можна легко розпізнати за внутрішньоклітинними включеннями сірки (мають вигляд кульок, які сильно заломлюють світло).

Зелені бактерії. Для цих бактерій характерна наявність хлоросом — органел, які прилягають до цитоплазматичної мембрани та містять характерний світлозбирний пігмент — бактеріо-хлорофіл (*c*, *d* або *e*). Крім того, вони містять невелику кількість і бактеріохлорофілу *a*, який прямо пов'язаний з фотосинтетичними реакційними центрами і локалізований у цитоплазматичній мембрані. Зелені бактерії не здатні фіксувати вуглекислий газ у циклі Кальвіна (у них немає ферменту рибулозодифосфаткарбоксілази). Асиміляція CO_2 відбувається через відновлювальний цикл трикарбонових кислот.

Питання для самоконтролю

1. Мікробіологічні основи технології виготовлення вершкового масла.
2. Мікробіологічні основи технології виготовлення сметани.
3. Мікробіологічні основи технології виробництва лікарських дріжджів.
4. Використання мікробіологічних препаратів у харчуванні людини.
5. Технологічні процеси гідролізного виробництва.
6. Технологічні процеси виробництва білково-вітамінних концентратів.

Лекція 24

Хемоавтотрофи. Сіркобактерії

Хемоавтотрофи - організми, найчастіше бактерії, які утворюють органічні речовини, за рахунок енергії окислення неорганічних речовин. Дуже нагадують фотоавтотрофов, але тут інше джерело енергії, що не сонячне світло.

Хемоавтотрофи виявлені тільки серед бактерій, тобто тільки серед прокаріотних організмів, причому кількість їх порівняно невелика. Однак за своїми фізіолого-біо-хімічними властивостями, геохімічної діяльності та значенням для деяких галузей народного господарства ці мікроорганізми дуже цікаві. Існування хемоавтотрофов було відкрито С.Н. Виноградским. Початком послужили його роботи (1885-4889) по вивченню нитчастих мікроорганізмів, званих сіркобактеріями (*Beggiatoa*) і залізобактеріями (*Leptothrix ochracea*). В результаті проведених спостережень Виноградський прийшов до висновку, що життєдіяльність зазначених форм пов'язана з окисленням відповідно сірководню і сірки до сірчаної кислоти або закисного заліза в окисне і обидва процеси мають енергетичне значення. Свою гіпотезу Виноградський блискуче довів, виділивши (1890--1892) чисті культури нітрофікуючі бактерії (*Nitrosomonas* і *Nitrobacter*), які росли на мінеральних середовищах, окислюючи амонійний азот або нітрити і фіксуючи при цьому вуглекислоту. В даний час хемоавтотрофов поділяють на такі групи, які отримали свої назви відповідно природі окислюваних субстратів: 1. Нітрифікуючі бактерії. 2. Водневі бактерії. 3. сіркобактерії і тіонові бактерії. 4. Залізобактерій. Крім того, до хемоавтотрофов, мабуть, належить недавно виявлений Н. Н. Лялікова-Медведевої мікроорганізм *Stibiobacter*, окисляє оксиди тривалентної сурми (Sb_2O_3) до п'ятивалентної (Sb_2O_5). Таким чином, виявлені хемоавтотрофи, здатні отримувати енергію в результаті окислення мінеральних сполук п'яти елементів: H, N, S, Fe і Sb.

Сіркобактерії — фенотипова група бактрій та архей, що спеціалізуються на отриманні енергії за рахунок сірчаного циклу, тобто окиснення або відновлення елементарної сірки та деяких її сполук до сульфідів та сульфатів з воднем або органічними сполуками. Вони включають представників кількох типів бактерій і багато не-метаноногенних архей. Деякі сіркобактерії використовують процес анаеробного дихання для засвоєння сірки та деяких її сполук, виробляючи газ сірководень. Загальні сполуки сірки, які використовують ці бактерії як джерело енергії, — сірководень (H_2S), сірка, і тіосульфат ($S_2O_3^{2-}$). Найзагальніший кінцевий продукт окиснення сірки — сульфат (SO_4^{2-}). Підкласом цих організмів є сульфат-відновлюючі мікроорганізми.

Наприклад, широко поширений в морських і наземних середовищах, окислює сірку, виробляючи сульфати, корисні для рослин, у глибоких донних опадах він виробляє сірчану кислоту, яка розчиняє метали в шахтах та пошкоджує бетон і сталь. відновлює сульфати в напівзатоплених ґрунтах і стічній воді до сірководню, газу з гнилим яєчним запахом, загальним до таких

місць. *Thiothrix*, загальний в сірчанних джерелах і в стічній воді, як і обмежений багатими на сірку гарячими джерелами, перетворюють водневий сульфід до елементарної сірки. Багато видів зелених сіркобактерій (*Chlorobiaceae*) і пурпурних сіркобактерій використовують енергію від світла в безкисневому оточенні для перетворення сірки і її сполук на сульфати.

Питання для самоконтролю

1. Основні вимоги до безпечного проведення технологічного мікробіологічного процесу.
2. Технологічні процеси мікробіологічного синтезу і вимоги до їх безпечного проведення.
3. Гігієна праці робочих гідролізно-спиртового виробництва.

Лекція № 25

Нитчасті сіркобактерії та тіонові бактерії. *Nitrosomonas*. *Nitrobacter*. Нітрифікація. Залізобактерії

Нитчасті серобактерії є строгими аеробами. Багато з них мають нитчасту форму тіла, довжина якого досягає 10 мм. Найбільш типовими представниками нитчастих серобактерій є *Beggiataa* і *Thioploca*. Ці мікроорганізми відносяться до автотрофам: єдиним джерелом вуглецю, який вони використовують, служить вуглекислота. Необхідну для зв'язування вуглекислоти енергію вони отримують шляхом окислення сірководню киснем повітря: $2\text{H}_2\text{S} + \text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{S}_2$ кал. Таким чином, безбарвні серобактерії є типовими хемо-синтетиками.

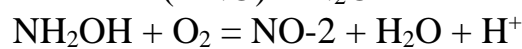
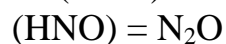
Тіонові бактерії здатні окиснювати тіосульфати, сульфіти, сульфідиди й молекулярну сірку до сірчаної кислоти (часто з істотним зниженням рН розчину), процес окиснення відрізняється від такого самого процесу в сіркобактерій (зокрема тим, що тіонові бактерії не відкладають внутрішньоклітинної сірки). Деякі представники тіонових бактерій є експериментальними ацидофілами (здатні виживати й розмножуватися при зниженні рН розчину аж до 2), здатні витримувати високі концентрації важких металів й окиснювати металеве й двовалентне залізо (*Acidithiobacillus ferrooxidans*) і вилуговувати важкі метали з руд.

Nitrosomonas є родом з грамнегативних паличковидних хемоавтотрофних бактерій. Цей організм окисляє аміак в нітрит в якості метаболічного процесу. *Nitrosomonas* корисні в біоремедіації. Вони грають важливу роль в азотному циклі за рахунок збільшення доступності азоту для рослин при одночасному обмеженні двоокису вуглецю фіксації. Роду знаходиться в ґрунті, прісній воді, а також на створення поверхонь, особливо в областях, які містять високі рівні сполук азоту.

Nitrobacter є рід, що включає паличкоподібні, грам-негативних і хемоавтотрофні бактерії. Назва *Nitrobacter* походить від латинського стерилізують статі іменника *nitrum*, нитри, лугів; Давньогрецький іменник *βακτηρία*, *βακτηρίας*, стрижень. Вони, не рухомі і воспроизводяться допомогою брунькування або бінарного розподілу. *Nitrobacter* клітина є облигатними аеробами і має час подвоєння близько 13 годин.

Нітрифікація — мікробіологічний процес окиснення аміаку до азотистої кислоти або її самої далі до азотної кислоти. Відбувається в аеробних умовах в ґрунті та природних водах. Часто може викликати появу в них нітратів в токсичній кількості, а оскільки нітрати — найбільш активно мігруюча в розчині сполука азоту — їх винесення з ґрунту в розташовані нижче по схилу водоймища, що спричиняє за собою евтрофікацію цих водоймищ.

Нітрифікація проходить в дві стадії, які здійснюються різними мікроорганізмами (хоча деякі виконують обидві стадії). Перша стадія — окиснення аміаку до азотистої кислоти (вірніше, її аніону), яке здійснюють нітрифікуючі бактерії (роди *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospiraceae*, *Nitrosolobus*, *Nitrosovibrio*).



Друга стадія — окиснення аніону азотистої кислоти до аніону азотної, що здійснюється нітрифікуючими бактеріями (роди *Nitrobacter*, *Nitrospiraceae*, *Nitrosococcus*). Обидві групи бактерій є облигатними аеробами, оптимальна для їх розвитку температура 25—30 градусів за Цельсієм і рН 7,5—8,0. У кислому середовищі процес не йде. Всі ці бактерії — грам-негативні автотрофи (літотрофи), що використовують енергію окиснення сполук азоту для синтезу органічних речовин з вуглекислого газу. Морфологічно ці групи різноманітні, в більшості своїй дрібні, рухомі, з полярним або перитрихальним джгутикуванням. Окиснення вони проводять на цитоплазматичній мембрані. Звільнені в ході реакцій електрони переходять в дихальний ланцюжок на цитохроми.

Залізобактерії — бактерії, здатні окислювати закисні солі заліза або марганцю до окисів, а також сірчані солі заліза з утворенням сірчаної кислоти. До 3. належать бактерії різних систематичних груп. Представлені одно- і багатоклітинними нитчастими формами. Останні оточені слизовою піхвою, в якій відкладається окис заліза. Більшість — гетеротрофи, відіграють важливу роль в утворенні залізо-марганцевих руд в озерах і конкрецій у морях. Сприяють корозії залізних споруд, нафто- і газопроводів (див. Корозія металів); іноді оселяються у водопровідних трубах і призводять до їх закупорки; сприяють утворенню надзвичайно кислих шахтних вод (рН 1—2) у вугільних покладах.

Питання для самоконтролю

1. Промислові викиди на підприємствах мікробіологічної промисловості.
2. Очищення промислових викидів мікробіологічного виробництва.
3. Охорона водоймищ від шкідливих викидів мікробіологічного виробництва.
4. Охорона ґрунту від шкідливих викидів мікробіологічного виробництва.
5. Характеристика сировини та її підготовка до спиртового бродіння у виробництві.

Лекція 26

Аеробне окиснення вуглеводів грибами. Анаеробні процеси

Неповне окиснення вуглеводів молекулярним киснем з утворенням органічних кислот (лимонної, щавлевої і ін.) Можуть здійснювати міцеліальні гриби, які, як і оцтовокислі бактерії, є строгими аеробами. Найбільше практичне значення має процес отримання лимонної кислоти, яку раніше отримували з лимонів, а тепер - за допомогою гриба *Aspergillus niger*. Фізіологію грибів та хімізм процесу детально вивчили С. П. Костичев і В. С. Буткевич.

Завдяки розробкам цих вчених в Ленінграді в 1930 році був організований перший завод лимонної кислоти. Процес здійснюють при обов'язковому доступі кисню. Лимонну кислоту отримують як поверхневим, так і глибинним методами. Для поверхневого методу живильним середовищем служить відхід цукробурякового виробництва - меляса, при окисненні цукрів якої утворюється лимонна кислота. Міцелій гриба розвивається в вигляді плівки на поверхні живильного середовища, налітої невисоким шаром (8-12 см) в плоскі відкриті судини - кювети, які засівають конидіями гриба. Процес накопичення лимонної кислоти в середовищі під плівкою гриба триває 6-8 днів при температурі 30 ° С і при хорошій аерації. Потім лимонну кислоту виділяють з розчину, необхідно очистити і кристалізації.

Виробництво лимонної кислоти глибинним методом здійснюється як зазвичай в герметично закритих ферментерах при постійній аерації і перемішуванні. Міцелій гриба в цьому випадку розвивається в вигляді дрібних кульок.

Анаеробне дихання — окиснення молекул для отримання енергії за відсутності кисню. Ці процеси вимагають наявності іншого акцептора електронів замість кисню. Термін «анаеробне дихання» часто вживають рівнозначно термінам «бродіння» та «ферментація», особливо, коли мова йде про гліколітичний шлях у клітині. Проте, певні анаеробні прокаріоти виробляють всю свою АТФ за рахунок іншого процесу, використовуючи електронну транспортну систему і АТФ-синтез. В анаеробних організмів замість кисню можуть використовуватися інші, зазвичай органічні, речовини як акцептори електрона. Термін "анаеробне дихання" часто використовується рівнозначно

термінам "бродиння" та "ферментація", особливо, коли йдеться про гліколітичний шлях у клітині. Анаеробне дихання, на відміну від аеробного, є процесом, за якого водень, відщеплений від органічної речовини, передається не на кисень, а на іншу органічну сполуку, що утворюється в цьому процесі. При анаеробному диханні виділяється значно менше енергії, ніж при аеробному, а тому для одержання такої ж кількості енергії анаеробні організми повинні витратити набагато більше глюкози порівняно з аеробами. Анаеробне дихання забезпечує існування організмів в умовах, де немає кисню. Анаероби дуже поширені у природі та живуть там, де не можуть жити аероби: у ґрунті, під водою, в кишковому тракті вищих тварин. Деякі анаероби є збудниками небезпечних захворювань людини (ботулізм, гострі кишкові інфекції та інші).

Питання для самоконтролю

1. Мікробіологічне виробництво спирту. Хімізм процесу.
2. Молочнокисле бродіння.
3. Пропіоновокисле бродіння.
4. Маслянокисле бродіння.
5. Ацетоновокисле бродіння.

Лекція 27

Молочнокисле бродіння. Збродження пектинових речовин. Збродження клітковини

Молочнокисле бродіння — процес анаеробного окиснення вуглеводів, кінцевим продуктом при якому виступає молочна кислота. Назва отримана по характерному продукту — молочній кислоті. Для молочнокислих бактерій є основним шляхом катаболізму вуглеводів і основним джерелом енергії у вигляді АТФ. Також молочнокисле бродіння відбувається в тканинах тварин у відсутності кисню при великих навантаженнях.

Розрізняють такі назви гомоферментативне і гетероферментативне молочнокисле бродіння, в залежності від продуктів що виділяються, крім молочної кислоти та їх відсоткового співвідношення. Відмінність також полягає й у різних шляхах одержання пірувату при деградації вуглеводів гомо-і гетероферментативними молочнокислими бактеріями.

Гомоферментативне молочнокисле бродіння При гомоферментативному молочнокислому бродінні вуглевод спочатку окиснюється до пірувату, по гліколітичному шляху, потім піруват відновлюється до молочної кислоти НАДН + Н (утворився на стадії гліколізу при дегідруванні гліцеральдегід-3-фосфата) за допомогою лактатдегідрогенази. Від стереоспецифічності лактатдегідрогенази та наявності лактатрацемази залежить, який енантіомер молочної кислоти буде превалювати в продуктах: L-, D-молочна кислота або ж DL-рацемат. Продуктом гомоферментативного молочнокислого бродіння є молочна кислота, яка

становить не менше 90% всіх продуктів бродіння. Приклади гомоферментативних молочнокислих бактерій: *Lactobacillus casei*, *L. acidophilus*, *Streptococcus lactis*.

Гетероферментативне молочнокисле бродіння. На відміну від гомоферментативного бродіння, деградація глюкози йде по пентозофосфатному шляху, гліцеральдегід-3-фосфат, що утворюється з ксилулозо-5-фосфату окиснюється до молочної кислоти, а ацетілфосфат відновлюється до етанолу (деякі гетероферментативні молочнокислі бактерії окиснюють отриманий етанол частково або повністю до ацетату). Таким чином, при гетероферментативному молочнокислому бродінні утворюється більше продуктів: молочна кислота, оцтова кислота, етанол, двоокис вуглецю. приклади гетероферментативних молочнокислих бактерій: *L. fermentum*, *L. brevis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Oenococcus oeni*.

У рослинах, особливо в плодах, ягодах, коренеплодах міститься багато пектинових речовин. Вони входять до складу серединних пластинок і склеюють між собою рослинні клітини. Пектинові речовини - це високомолекулярні сполуки (полісахариди). Під впливом пектолітичних ферментів мікроорганізмів, що розвиваються в рослинній сировині та в продуктах його переробки, відбувається ступінчастий гідроліз пектинових речовин з освітою галактуронової і оцтової кислот, вуглеводів (галактози, ксилози, арабінози), метилового спирту і ін. речовин. Ферментативний гідроліз мікроорганізмам енергії не дає. В анаеробних умовах вони її отримують в процесі маслянокислого бродіння, якому піддаються продукти гідролізу - арабіноза і галактоза (в анаеробних умовах відбувається їх повне окислення до CO_2 і H_2O).

Бродіння протікає за участю певних видів маслянокислих бактерій. Продуктами бродіння є масляна і оцтова кислоти, а також газ - CO_2 і H_2 . Розкладання пектинових речовин призводить до псування продукції, наприклад, солоні огірки, розм'якшуються або в них з'являються порожнечі за рахунок мацерації (розпаду на окремі клітини) тканин огірків при ферментативному розщепленні серединних пластинок. У природі (воді, ґрунті) розкладання пектинових речовин відіграє велику роль в круговороті вуглецю за рахунок розкладання рослинних залишків.

Бродіння клітковини відбувається всюди, де скупчуються рослинні залишки, - в ґрунті, воді, гної, а також в шлунково-кишковому тракті травоядних, особливо в преджелудках жуйних, для яких розщеплення клітковини має важливе значення, так як сприяє більш повному засвоєнню вуглеводів і білкою. Бродіння клітковини може відбуватися в аеробних і анаеробних умовах. При анаеробних умовах його викликають спороутворюючі палички водневого і метанового бродіння. Обидва мікроорганізми за допомогою ферменту целюлози перетворюють клітковину в цукор і зброджують його з виділенням вуглекислого газу. При цьому для бактерій метанового бродіння характерне утворення метану, а для бактерій водневого бродіння - водню. Аеробне розщеплення клітковини

викликається бактеріями, грибами і актиноміцетами. Розкладання потрапили в ґрунт рослинних залишків може йти також шляхом гуміфікації з утворенням перегною.

Питання для самоконтролю

1. Сировина та особливості складу поживних середовищ виробництва ферментних препаратів.
2. Мікробіологічне виробництво ферментних препаратів.
3. Технологія виділення ферментних препаратів.
4. Мікробіологічне виробництво вітамінів.

Лекція № 28

Анаеробні гнильні бактерії. Бульбочкові бактерії. Вільні азотфіксуючі бактерії

Гнильні бактерії викликають розпад білків. Залежно від глибини розпаду і утворюються кінцевих продуктів можуть виникати різні пороки харчових продуктів. Ці мікроорганізми широко поширені в природі. Вони зустрічаються в ґрунті, воді, повітрі, на харчових продуктах, а також в кишечнику людини і тварин.

До гнильним мікроорганізмам відносяться аеробні спорові і безспорові палички, спороутворюючі анаероби, факультативно-анаеробні безспорові палички. Вони є основними збудниками псування молочних продуктів, викликають розпад білків (протеоліз), в результаті чого можуть виникати різні пороки харчових продуктів, які залежать від глибини розпаду білка. Антагоністами гнильних є молочнокислі бактерії, тому гнильний процес розпаду продукту виникає там, де не йде кисломолочний процес.

Бульбочкові бактерії відносяться до роду *Rhizobium*. Вони мають властивість фіксувати азот із атмосферного повітря і синтезувати органічні азотовмісні сполуки. Ці мікроорганізми утворюють на коренях деяких бобових рослин бульбочки, вступаючи в симбіоз. Дані бактерії переводять азот в сполуки, легко доступні для засвоєння рослинами, а квіткові рослини, в свою чергу, є джерелами живильних речовин для бульбочкових бактерій. Також даний вид бактерій є важливою ланкою в процесі збагачення ґрунту азотом.

Після проникнення в кореневий волосок бактерії викликають інтенсивне ділення клітин кореня, внаслідок чого з'являється бульбочка. Самі бактерії розвиваються в цих бульбочках на коренях, беручи участь в асиміляції азоту. Там вони трансформуються в розгалужені форми - бактероїди, що поглинають молекулярний азот, амонійні солі, амінокислоти, нітрати. Як джерело вуглецю бульбочкові бактерії використовують моносахариди, дисахариди, спирти, органічні кислоти.

Бульбочкові бактерії мають розміри від 0,5 до 3 мкм. Вони не утворюють спор, рухомі, грамнегативні, потребують доступу кисню для нормального перебігу обмінних процесів. У лабораторних умовах колонії бульбочкових бактерій добре ростуть при температурі 25 градусів на щільних середовищах. Вони мають характерну округлу форму, слизової консистенції, прозорі. Бульбочкові бактерії живуть на коренях у 10% рослин із родини бобових. Причому різні види бактерій розвиваються на кореневій системі певних вищих рослин. У вікі, кормових бобів, гороху - *Rh. Leguminosarum*, у буркуну, люцерни - *Rhizobium meliloti*, у сої - *Rh. Japonicum*, у конюшини - *Rh. Trifolii*. Якщо коріння бобових відмирають, а бульби руйнуються, бульбочкові бактерії не гинуть, а ведуть спосіб життя сапрофітів.

Ці бактерії поглинають з атмосферного повітря до 300 кг азоту на 1 га, при цьому в ході їх життєдіяльності в ґрунті залишається понад 50 кг азотовмісних сполук. Щоб підвищити кількість бульбочкових бактерій в ґрунті і, відповідно, врожайність культурних бобових рослин, при посадці насіння додають бактеріальний засіб - нітрагін, тобто штучно заражають насіння бобових бульбочковими бактеріями.

Азотфіксуючі мікроорганізми — мікроорганізми, що засвоюють молекулярний азот атмосфери. До активних азотфіксуючих мікроорганізмів належать вільноживучі в ґрунті й водоймах азотобактер і клостридій та симбіотичні мікроорганізми — бульбочкові бактерії. Атмосферний азот фіксують також певні види актиноміцетів, мікоризних грибів, дріжджів, спірохет, а також деякі ціанобактерії (синьо-зелені водорості), бактерії, що живуть у кишечнику багатьох тварин. Азотфіксуючі мікроорганізми відіграють важливу роль у кругообігу Нітрогену в природі, збагачують ґрунт азотом, перетворюючи його на доступні для рослин форми. Першим азотфіксуючі мікроорганізми виділив у 1898 український мікробіолог С. Виноградський (народився у м. Києві). Названо азотфіксуючі мікроорганізми на честь Л. Пастера *Clostridium pasterianum*.

Питання для самоконтролю

1. Мікробіологічне виробництво амінокислот.
2. Мікробіологічне виробництво препаратів мікробного білку.
3. Мікробіологічне очищення промислових стічних вод.
4. Характеристика стічних вод харчового і мікробіологічних виробництв.
5. Мікробіологічна очистка стічних вод у природних умовах.
6. Очищення стічних вод

Лекція 29

Процес амоніфікації і його типи

Амоніфікація – процес мінералізації органічних азотовмісних речовин, що супроводжується виділенням аміаку. Здійснюють його різні групи мікроорганізмів. У процесі життєдіяльності мікроорганізмів частина найбільш складних органічних азотовмісних речовин запасується в ґрунті у вигляді гумусу. Амоніфікація є принципово важливим процесом у циклі трансформації азоту, у результаті якого наша планета очищується від продуктів рослинного, тваринного й мікробного походження.

Амоніфікація відбувається в аеробних та анаеробних умовах. Амоніфікуючими мікроорганізмами можуть бути аеробні та анаеробні мікроорганізми, які розкладають білки, сечовину, хітин, органічні добрива, гумус та ін. Якщо під час амоніфікації білків, що містять сірку (Сульфур), утворюються сірководень, індол, скатол, то такий процес називають гниттям, а мікроорганізми, що його здійснюють,— бактеріями гниття, або гнильними бактеріями. Крім бактерій гниття, амоніфікацію спричиняють уробактерії, актиноміцети, гриби. Унаслідок діяльності амоніфікуючих мікроорганізмів важкозасвоюваний Нітроген органічних сполук рослинних і тваринних решток переходить у доступну для рослин форму.

Амоніак, що виділяється у процесі амоніфікації, нейтралізують кислоти ґрунту з утворенням амонійних солей, або нітрифікуючі бактерії окиснюють його до азотної (нітратної) та азотистої (нітритної) кислот. Більшість амоніфікуючих мікроорганізмів використовують білок як джерело вуглецю (Карбону) та енергії, тільки якщо немає інших субстратів (цукрів, спиртів, органічних кислот тощо). Бактерії роду Протей (*Proteus*), представники родів *Bacillus*, *Pseudomonas* та *Clostridium* переважно використовують білки, а ґрунтові бактерії *Bacillus pasteurii* здійснюють амоніфікацію карбаміду (сечовини). Для представників роду *Clostridium* характерне гнильне розкладання нітрогеновмісних сполук з утворенням амінів, які далі окиснюють в аеробних умовах інші бактерії з виділенням амоніаку.

Питання для самоконтролю

1. Поживні середовища у мікробіологічному виробництві.
2. Очищення і стерилізація повітря для технології мікробіологічного процесу.
3. Отримання посівного матеріалу.
4. Виробниче культивування поверхневим методом.

Лекція № 30

Перетворення речовин, які містять карбон, в природі

Вуглець — дуже важливий біогенний елемент, який складає основу життя на Землі, структурна одиниця величезної кількості органічних сполук, що беруть участь у побудові організмів та забезпеченні їхньої життєдіяльності. Значна частина необхідної для організмів енергії утворюється в клітинах за рахунок окиснення вуглецю. Виникнення життя на Землі розглядається сучасною наукою як складний процес еволюції вуглецевих сполук.

Унікальна роль вуглецю в живій природі обумовлена його властивостями, яких у такому поєднанні не має жоден елемент періодичної системи. Між атомами вуглецю, а також між вуглецем та іншими елементами утворюються міцні хімічні зв'язки, які, проте можуть бути розірвані за порівняно м'яких умов. Ці зв'язки можуть бути одинарними, подвійними та потрійними. Здатність вуглецю утворювати чотири рівнозначні валентні зв'язки надає можливість для побудови вуглецевих скелетів різних типів — лінійних, розгалужених, циклічних.

Показово, що всього три елементи — вуглець, кисень та водень — становлять 98 % загальної маси живих організмів. Цим досягається певна економність в живій природі: при практично безмежнім структурнім різноманітті вуглецевих сполук невелика кількість типів хімічного зв'язку дозволяє набагато скоротити кількість ферментів, необхідних для розщеплення і синтезу органічних речовин. Особливості будови атома вуглецю лежать в основі різних видів ізомерії органічних сполук. Здатність до оптичної ізомерії виявилась вирішальною в біохімічній еволюції амінокислот, вуглеводів і деяких алкалоїдів.

Відповідно до гіпотези А.І.Опаріна та сучаснішої гіпотези РНК перші органічні сполуки на Землі мали абіогенне походження. За джерела вуглецю правили метан та ціаністий водень, які містилися в первинній атмосфері Землі. З виникненням життя єдиним джерелом неорганічного вуглецю, за рахунок якого утворюється вся органічна речовина біосфери, є двооксид вуглецю, який перебуває в атмосфері, а також розчинений в природних водах у вигляді H_2CO_3 . Найпотужніший механізм засвоєння вуглецю (у формі CO_2) — фотосинтез, який здійснюється повсюдно зеленими рослинами. Щороку асимілюється близько 100 млрд т CO_2 .

Рослини поглинають вуглекислий газ з повітря, виділяючи в атмосферу такий же об'єм кисню. У присутності хлорофілу CO_2 взаємодіє з водою, перетворюючись на складніші вуглецеві сполуки, наприклад вуглеводи. Схематично процес утворення вуглеводів може бути представлений рівнянням: $\text{CO}_2 + 6\text{H}_2\text{O} = \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + \text{O}_2$ Одночасно утворюється крохмаль та різноманітні інші речовини, з яких складаються рослини. На Землі існує еволюційно древніший спосіб засвоєння CO_2 шляхом хемосинтезу. В цьому випадку мікроорганізм-

хемосинтези використовують не променисту енергію Сонця, а енергію окиснення неорганічних сполук. Більшість тварин споживає вуглець у вигляді вже готових органічних речовин.

В залежності від способу засвоєння органічних сполук розрізняють автотрофні та гетеротрофні організми. Окрім основної функції — джерела вуглецю — двооксид вуглецю розчинений в природних водах і біологічних рідинах, бере участь у підтримці оптимальної для життєвих процесів кислотності середовища.

У складі CaCO_3 вуглець утворює зовнішній кістяк багатьох безхребетних тварин (наприклад, мушлі молюсків), а також міститься в коралах, шкаралупі яєць птахів тощо. Такі сполуки вуглецю, як HCN , CO , CS_{14} , які переважали в первісній атмосфері Землі в добіологічний період, надалі, в процесі біологічної еволюції, перетворилися на сильні антиметаболіти обміну речовин.

Питання для самоконтролю

1. Промислове культивування безперервним глибинним методом.
2. Промислове культивування періодичним глибинним методом.
3. Виділення кінцевого продукту із культуральної рідини.
4. Виділення кінцевого продукту із мікробної маси.

Лекція № 31

Тема 2.4. Метаболічні процеси у мікроорганізмів. Біохімічні основи регуляції

Метаболізм – це сукупність процесів, що протікають у клітині, які забезпечують її життєдіяльність. Клітинний метаболізм складається із двох протилежно спрямованих процесів: енергетичного метаболізму (катаболізму) і конструктивного метаболізму (анаболізму).

Енергетичний метаболізм (катаболізм) – це сукупність реакцій окиснення різних відновлених органічних і неорганічних сполук, що супроводжуються виділенням енергії, яка акумулюється клітиною у вигляді фосфатних зв'язків.

Конструктивний метаболізм (анаболізм) – це сукупність реакцій біосинтезу, у результаті яких за рахунок речовин, що надходять ззовні, і проміжних продуктів, що утворюються при катаболізмі (амфіболітів), синтезуються речовини клітини. Цей процес пов'язаний зі споживанням вільної енергії, що запасується в молекулах АТФ або інших багатих енергією з'єднаннях. Метаболізм прокариот, як енергетичний, так і конструктивний, відрізняється надзвичайною різноманітністю.

Це є результатом того, що бактерії можуть використовувати в якості джерел енергії й вуглецю досить широкий набір органічних і неорганічних сполук. Така здатність обумовлена відмінностями в наборі ферментів.

Регуляція реакції метаболізму становить основний зміст досліджень в біохімії, і це одна з найбільш чудових здібностей живої клітини. Серед тисяч ферментативних реакцій, що відбуваються в клітині, можливо, немає жодної, яка в тому чи іншому вигляді не піддавалася б регуляції.

Хоча в підручниках прийнято (та це й корисно) поділяти метаболічний процес на окремі «шляхи», що виконують певні функції в життєзабезпеченні клітини, в самій клітці подібного поділу не існує.

Більш того, кожен шлях, обговорюваний в цій книзі, нерозривно пов'язаний з усіма іншими клітинними процесами, що показано за допомогою багатовимірної мережі реакцій. Наприклад, в гл. 14 ми обговорювали три можливих шляхи перетворення глюкозо-6-фосфату в клітинах печінки: участь в гліколізі для накопичення АТФ, участь в пентозофосфатному шляху для отримання NADPH і пентозофосфатів, а також гідроліз до глюкози і фосфату для поповнення запасів глюкози в крові. Але насправді існує ряд інших можливих шляхів перетворення глюкозо-6-фосфату; він може, наприклад, використовуватися для синтезу інших цукрів, таких як глюкозамін, галактоза, галактозамін, фукоза і нейрамінової кислота, брати участь в Глікозилування білків або частково розкладатися, поставляючи ацетил-СоА для синтезу жирних кислот і стеринів.

Наприклад, бактерія *Escherichia coli* використовує глюкозу для синтезу вуглецевих скелетів абсолютно всіх своїх молекул. Коли клітина направляє глюкозо-6-фосфат по одному з шляхів, це впливає на всі інші шляхи, у яких ця речовина є попередником або інтермедіатом. Будь-яка зміна в розподілі глюкозо-6-фосфату в одному метаболічному шляху прямо або побічно впливає на його участь у всіх інших шляхах.

Подібні зміни в розподілі метаболітів часто трапляються в житті клітини. Луї Пастер першим описав значне збільшення споживання глюкози (більш ніж в 10 разів) культурою дріжджів при переході від аеробних умов до анаеробних. Це явище, назване ефектом Пастера, не супроводжується якими-небудь помітними коливаннями концентрації АТФ або якогось іншого речовини з сотень інтермедіатів і продуктів метаболізму глюкози. Схожі зміни спостерігаються в клітинах скелетних м'язів бігуна на спринтерській дистанції. Клітини мають приголомшливу здатність одночасно і економно здійснювати всі ці взаємопов'язані метаболічні перетворення і отримувати кожен продукт в строго певній кількості і в строго певний момент часу при мінливих умовах зовнішнього середовища.

Питання для самоконтролю

1. Технологія виробництва кормових дріжджів.
2. Виробництво білкових продуктів із природного газу.

Лекція № 32

Регуляція синтезу ферментів. Регуляція активності ферментів

Регуляція синтезу ферментів Незважаючи на малі розміри клітини, в ній одночасно присутні кілька тисяч різних хімічних сполук. Кількість одних сполук підтримується на постійному рівні, інших-варіює в широких межах. АТФ, наприклад, зазвичай становить 0,04% від маси клітини. У період інтенсивного біосинтезу, коли АТФ швидко витрачається, активно протікають і окислювальні процеси, що дозволяють клітині компенсувати витрачену енергію і заповнити запас АТФ.

Кількість білків, одночасно присутніх в клітці, може досягати декількох сотень і навіть тисяч. У збалансованому стані концентрація кожного білка становить від декількох сотих до декількох десятих відсотка від суми всіх білків. Якщо ж у клітці виникає недолік будь-якого життєво важливого з'єднання, в ній починається посилений синтез ферментів, що сприяють утворенню саме цього з'єднання. Так, при нестачі в клітці фосфорної кислоти (необхідної для утворення АТФ) починається посилений синтез фосфатази, що викликає омилення ефірів фосфорної кислоти і виділення фосфатів у вільному стані.

Кількість фосфатази при цьому може збільшитися в 50-100 разів і досягти 5% від усіх білків клітини. Вельми значно змінюється зміст окислювально-відновних ферментів, дегідрогеназ, залежне від інтенсивності окислювально-відновних процесів в клітині. Чим активніше клітина окисляє субстрат, тим вище в ній концентрація дегідрогеназ. (Завдяки цьому виявилось можливим характеризувати ступінь активності мулу на очисних спорудах за вмістом у ньому дегідрогеназ. Чим інтенсивніше мул переробляє забруднення, тим вище його дегідрогеназну активність).

Все що протікають у клітці хімічні реакції добре збалансовані один з одним. Це свідчить про існування в клітці ряду систем автоматичного регулювання, керуючих кінетикою обмінних процесів. Гіпотезу регулювання синтезу ферментів у клітині запропонували французькі вчені Ф. Жакоб і Ж. Моно. Відповідно до цієї гіпотези, всі гени, відповідальні за синтез якого-небудь з'єднання, розташовуються в молекулі ДНК послідовно один за іншим, в порядку дії ферментів. Так як ці гени визначають структуру ферменту, їх називають структурними. Крім них існує ще й ген-оператор, «що включає» і «вимикає» структурні гени.

Активація ферментів шляхом обмеженого протеолізу їх молекул є механізмом незворотної трансформації ферменту в каталітично активний стан. При дії цього механізму від неактивної форми ферменту-попередника {проферменту, зимогену) відщеплюється певний пептидний ланцюг; у пептиді, що залишається після обмеженого протеолізу, відбуваються конформаційні зміни, які призводять до формування активного центру і створення каталітично активної форми білка-ферменту.

Цей регуляторний механізм функціонує при утворенні активних форм більшості протеолітичних ферментів травного каналу — пепсину, трипсину, хімотрипсину, а також активних протеаз, що є компонентами (факторами) згортальної і фібринолітичної систем крові людини.

Активність деяких ферментів контролюється спеціальними регуляторними білками, що можуть спричиняти активуючі або інгібіторні ефекти.

Прикладами таких білків

-ефекторів є: - кальмодулін (КМ) — Са-чутливий протеїн, який є хімічним сенсором, що трансформує збільшення цитозольної концентрації Ca^{2+} в певні біохімічні та фізіологічні реакції клітини; після зв'язування чотирьох іонів кальцію комплекс КМ-4Ca^{2+} стає здатним до активації багатьох ферментних білків, зокрема фосфодіестерази циклічних нуклеотидів, кінази легких ланцюгів міозину тощо;

- протеїназні інгібітори, тобто ефектори, що обмежують (блокують) активність тканинних протеїназ — ферментів, які спроможні розщеплювати власні білки організму; найбільш активними інгібіторами є α 2-макроглобулін та α 1-антитрипсин (α 1-протеїназний інгібітор), які блокують активність серинових та інших протеїназ за рахунок зв'язування з їх активними центрами;

- антигемофільний глобулін А (фактор VIII згортальної системи крові); цей білок бере участь в активації фактора X, що запускає весь коагуляційний каскад, який призводить до формування кров'яного згустка; спадкова недостатність антигемофільного глобуліну А проявляється схильністю до кровотеч — гемофілією.

Другий шлях регуляції є механізмом довготривалої адаптації ферментного апарату. Для його включення і повної реалізації необхідно декілька годин або діб. У більшості випадків він полягає в змінах в інтенсивності біосинтезу певного ферментного білка за рахунок впливу на систему ядерного генома або рибосомального білкового синтезу (тобто процеси транскрипції та трансляції). У деяких біохімічних системах кількість білка-ферменту в клітині збільшується шляхом стабілізації існуючих молекул за рахунок гальмування активності протеаз, що їх розщеплюють. Цей тип регуляції широко представлений у мікроорганізмів, які мають вражаючу властивість пристосування до змін у хімічному складі культурального середовища (концентрацій амінокислот, вуглеводів, присутності певних антибіотиків тощо) шляхом швидкої активації або гальмування синтезу відповідних ферментів.

Питання для самоконтролю

1. Мікробіологічне виробництво лимонної кислоти.
2. Мікробіологічне виробництво молочної кислоти.
3. Мікробіологічне виробництво оцтової кислоти.

Лекція № 33

Індукція синтезу ферменту. Репресори. Діауксія. Катаболічна репресія

Індукція субстратом. Прикладом такої індукції може бути індукція β -галактозидази — ферменту, необхідного для використання лактози клітинами *E. coli*. Цей фермент розщеплює лактозу на глюкозу та галактозу. Клітини, які ростуть на глюкозі, містять лише слідові кількості цього ферменту. При вирощуванні на лактозі (субстраті) β -галактозидаза активність збільшується у 1000 разів.

Якщо в результаті розщеплення субстрату утворюється ряд проміжних продуктів (A, B, C, D) і в цьому процесі беруть участь ферменти *v, a, b, c, d*, то індукція субстратом може бути координованою (субстрат індукує одночасне утворення всіх ферментів від *a* до *d*) та послідовною (синтез ферментів здійснюється послідовно: спочатку *v*, потім *a* і т.д.)



Рисунок 11 – Індукція синтезу ферментів

Координований синтез ферментів дає клітині ту перевагу, що вона може швидко реагувати на появу субстрату. За послідовної індукції швидкість перетворення субстрату, а отже, і швидкість росту клітин збільшуються повільно, оскільки концентрація першого продукту реакції повинна досягти певного порогового рівня, перш ніж вона буде стимулювати утворення другого ферменту.

Індукція продуктами реакцій. За такого типу індукції синтез ферментів катаболізму індукується продуктом першої або наступної реакції даного катаболічного шляху. Така індукція відбувається, наприклад, в результаті розщеплення триптофану. Катаболізм триптофану здійснюється через форміл-кінуренін, кінуренін, антрахілат до пірокатехіну. Індуктором для відповідної групи ферментів є кінуренін.

Репресор (лат. repressor — той, що обмежує, стримує) — особливий регуляторний білок, що контролює синтез (транскрипцію) матричної, або інформаційної, рибонуклеїнової кислоти (м-РНК) з певного оперона. Приєднуючись до оператора, Р. "виключає" його і тим самим блокує роботу структурних генів, тобто синтез м-РНК припиняється. При приєднанні Р. до відповідного ефектора оператор звільнюється від нього, і синтез м-РНК відновлюється. Кожний Р. регулює синтез одного, іноді кількох білків, якщо вони синтезуються на одній м-РНК.

Діауксія - Поява однієї або декількох перехідних (тобто тимчасових) фаз росту в культурі. Це відбувається, коли бактерії знаходяться в середовищі, що містить два або більше альтернативних джерела живлення. Часто бактерії використовують одне джерело, вважаючи за краще його іншому, поки цей перший не виснажить. Тоді бактерії переключаються на інше джерело живлення. Однак зростання помітно сповільнюється ще до того, як відбулася зміна джерела живлення.

Прикладом є *E. coli* - бактерія, зазвичай мешкає в кишечнику. Як джерело енергії та вуглецю вона може використовувати глюкозу або лактозу. Якщо присутні обидва вуглеводи, то спочатку використовується глюкоза, а потім зростання сповільнюється до тих пір, поки не утворюються ферменти, зброджують лактозу.

Каталітична репресія, є важливою частиною глобальної системи контролю різних бактерій та інших мікроорганізмів. Каталітична репресія дозволяє мікроорганізми швидко адаптуватися до кращого (швидко) обмінним вуглецю і енергії першого джерела. Це зазвичай досягається за рахунок пригнічення синтезу ферментів, які беруть участь в катаболізмі, відмінних від переважного одного джерела вуглецю. Однак, термін «ефект глюкози» насправді є неправильним, тому що інші джерела вуглецю, як відомо, викликають каталітичні репресії.

Питання для самоконтролю

1. Поясніть, в чому полягають основи технології мікробіологічних виробництв. Наведіть приклади сировинної бази мікробіологічних виробництв.
2. Обґрунтуйте специфічність вимог до будови і функцій ферментатора промислового культивування.
3. Проаналізуйте особливості поверхневого способу проведення мікробіологічного синтезу.

Лекція № 34

Генетика бактерій. Безстатеве і статеве розмноження. Передавання ознак і генетична рекомбінація

Геном бактерій (сукупність всіх генів) представлений хромосоною, плазмідами і транспозонами причому обов'язковим генетичним елементом є тільки хромосома. Хромосома і плазміди є реплікон - елементами, здатними до автономної реплікації (самоподвоєнню).

Хромосома являє собою замкнуту в кільце двухспіральна нитка ДНК, щільно укладену в цитоплазмі і несучу 95-99% генетичної інформації (дихання, харчування та інші найважливіші функції) Послідовність нуклеотидів в

хромосомі визначає чергування оперонів, функціонування яких відбувається також, як у інших організмів.

Плазмідні - це позахромосомні генетичні елементи, що представляють собою замкнуті в кільце двоспіральні молекули ДНК, які зазвичай перебувають в скрученому стані в цитоплазмі або в інтегрованому стані (в складі хромосоми). Вони кодують 1-5% генетичної інформації (переважно, адаптаційні властивості), можуть втрачатися кліткою без втрати життєздатності, а також передаватися від клітини-донора в клітку-реципієнта.

Трансмисивні плазмідні передаються шляхом самопереносу при кон'югації, нетрансмисивні - пасивні, шляхом трансдукції за участю помірної бактеріофага або при мобілізації трансмисивної плазмідної в ході кон'югації. Плазмідні можуть містити гени множинної лікарської стійкості (K - фактор), вірулентності (плазмідні токсигенності, адгезивності і ін.), Додаткових ферментів метаболізму (утилізація лактози, цитрату і ін.). Плазмідні наділяють клітку додатковою генетичною інформацією, яка дає їй селективні переваги (наприклад, здатність зберігатися у внутрішньому середовищі макроорганізму, де на мікроб діють захисні реакції організму і антибіотики, прийняті в ході лікування).

Транспозони - це окремі фрагменти ДНК, здатні до багаторазового переміщення від одного реплікону до іншого без зміни структури. Вони не здатні до автономної реплікації (подвоюються разом з хромосоною і плазмідні), можуть переміщатися (в складі плазмідні) від клітини-донора в клітку-реципієнта, викликаючи зміну її генотипу.

Розрізняють вставки-послідовності, що не кодують відомих ознак, і транспозони, що кодують I або кілька ознак (будь-яких). Переміщення, в залежності від виду елемента, може відбуватися в різні або в певну ділянку реплікону, що також є важливим механізмом мінливості мікробів.

Після досягнення певних параметрів клітини, що виражаються необхідним співвідношенням обсягів цитоплазми та ядра, бактерії починають розмножуватися безстатевим і статевим способом. Багато бактерій позбавлені статевих процесів, і розмноження у них протікає тільки шляхом поділу або брунькування. Так, практично всім видам бактерій притаманне множинний рівновеликий бінарний поділ, що є рядом послідовних простих розподілів кожної клітини за короткий відрізок часу на дві ідентичні клітини. Розподіл грампозитивної бактеріальної клітини здійснюється після реплікації ДНК.

Мезосоми формують поперечну перегородку в клітці бактерії від периферії до центру. Особливість безстатевих способів розмноження грамнегативних бактерій полягає в тому, що розподіл відбувається шляхом формування перетяжки при втягуванні мембрани і клітинної стінки всередину клітини. Брунькування є процес утворення і росту бруньки на одному з полюсів материнської клітини, яка проявляє ознаки старіння і не дає більше чотирьох дочірніх клітин.

Статеве розмноження у бактерій здійснюється в примітивній формі. У бактерій не утворюються гамети, і немає злиття клітин. Однак найважливіша подія статевого процесу відбувається - це обмін генетичним матеріалом, що називається генетичною рекомбінацією. При статевому процесі частина ДНК бактеріальної клітини донора транспортується в клітину реципієнта і заміщає аналогічну частину ДНК реципієнта під впливом необхідних ферментів. Новостворена рекомбінантна ДНК бактерії містить гени обох батьківських клітин.

Особливістю клітин, утворених при статевому розмноженні, є те, що у них спостерігається різноманітність ознак, завдяки з'єднанню генів різних організмів. Це є основою еволюційних перетворень і появи нових видів бактерій. Вивчено три способи утворення рекомбінантів: трансформація, трансдукція та кон'югація.

У бактерій відомі три способи передавання ознак: кон'югація, трансдукція, трансформація. У результаті цих процесів ДНК переноситься з бактерії-донора у бактерію-реципієнт. Ці три процеси відрізняються один від одного способом транспортування ДНК. Після перенесення ДНК у клітині-реципієнті відбувається рекомбінація. При цьому ДНК донора вбудовується в ДНК бактерії-реципієнта. Клітину, в якій відбулася рекомбінація, називають рекомбінантом (рекомбінантна клітина).

Питання для самоконтролю

1. Надайте характеристику методів забезпечення технологічної мікрокультури киснем, а також основних методів для зниження піноутворення.
2. Охарактеризуйте основні продукти, що виробляються мікробіологічною промисловістю.
3. Охарактеризуйте мікроорганізми, які використовуються у технологіях приготування кефіру.

Лекція № 35

Рекомбінантна ДНК. Трансформація. Кон'югація. F-фактор. Трансдукція. Плазміни і епісоми

Рекомбінантна ДНК (recombinant DNA, rDNA) — молекула ДНК, отримана за допомогою методів генетичної інженерії (молекулярне клонування). Молекула поєднує в собі генетичний матеріал, виділений з різних біологічних джерел, створюючи таким чином певну ДНК послідовність. Отримана таким чином векторна ДНК може реплікуватись у клітинах-хазяях. Векторами для рекомбінантної ДНК можуть бути плазмідни, віруси, штучні хромосоми на основі

дріжджових чи тваринних хромосомальних елементів. Існує велика кількість різних систем, що дозволяють здійснювати експресію привнесених генів.

Трансформація — генетична модифікація клітини шляхом введення і подальшої експресії в ній чужорідного генетичного матеріалу (ДНК).

Бактеріальна кон'югація — передача генетичного матеріалу між бактеріями через прямий міжклітинний контакт. Це один з механізмів горизонтального переносу генів, як і трансформація та трансдукція, хоча ці механізми не вимагають контакту між клітинами. Бактеріальна кон'югація відносно рідкісна серед бактерій, хоча і звичніша у панміктичних популяціях.

F-плазміда, або F-фактор — це кон'югативна епісома клітин *Escherichia coli*. Клітинний елемент, необхідний для одного з типів статевого процесу бактерій — кон'югації.

Трансдукція (від лат. *transductio* — переміщення) — форма горизонтального перенесення генів, при якій передача генетичного матеріалу від однієї клітини до іншої відбувається за допомогою вірусу (бактеріофага у випадку бактерій), що, як і у випадку інших форм горизонтального перенесення генів, призводить до зміни спадкових властивостей. Вірус, що переносить клітинну ДНК або РНК, називається трансдукційною частинкою. Розрізняють два види трансдукції: загальну (генералізовану), за якої може переноситись будь-яка ділянка геному клітини, та спеціалізована, під час якої завжди переноситься один і той самий набір генів. Явище трансдукції було відкрито американськими вченими Джошуа Ледербергом і Нортоном Циндером у 1952 році, під час вивчення бактерії *Salmonella typhimurium* та її паразита фага P22. Явище загальної трансдукції використовують для картування геномів бактерій, а також у генній інженерії.

Плазмін - фермент, що каталізує гідролітичні розщеплення пептидів і складних ефірів аргініну і лізину; перетворює фібрин в розчинні продукти, сприяючи розсмоктуванню тромбу.

Episome, в області генетики це молекула ДНК, здатна автономно реплікуватися в цитоплазмі клітини-господаря, і яка фізично інтегрована в хромосому господаря, вона також реплікується як єдина молекула (яку ми називаємо коінтеграцією).). Таким чином, епісома може бути інтерпретована як спосіб співіснування, а не як тип реплікона. Насправді, для деяких авторів транспозони і послідовності вставки можуть розглядатися як епісоми, оскільки вони дійсно здійснюються на хромосомі клітини-господаря, хоча вони ніколи не мають незалежного і автономного існування в цитоплазмі.

Питання для самоконтролю

1. Поясніть морфологію та класифікацію бактерій як тип мікроорганізмів, що використовуються в мікробіологічній промисловості.

2. Охарактеризуйте основні поверхневі методи промислового культивування мікроорганізмів.

Лекція № 36 Генетичний апарат прокаріотів

Гени прокаріотної клітини складаються із безперервно кодуючої послідовності нуклеотидів, тобто прокаріотам властиве тісне зчеплення генів. Хромосоми бактерій володіють однією групою зчеплення генів. Інформація в генах записана однакою генетичним кодом для всіх прокаріотів, і принципи її реалізації також однакові у всіх організмів. У структурі гена запрограмовані два основні етапи його вираження (експресії) — транскрипція і трансляція. Гени бактерій складаються із промотора, білок-кодуючої ділянки і тер-мінатора транскрипції.

Послідовність розміщення генів на бактеріальній хромосомі може бути відображена на генетичній карті, яка є умовною схемою хромосоми бактерії. На цій карті зазначено послідовність розміщення окремих генів, відносну довжину самих генів і відстань між ними, виражену в умовних одиницях рекомбінації. За таку одиницю умовно прийнята частота рекомбінації, яка дорівнює 1%. До 1972 р, було встановлено 460 генів на хромосомній карті кишкової палички. Окрім цієї бактерії, генетичні карти складені для сінної палички та інших мікроорганізмів.

У багатьох видів бактерій є ще один тип генетичних елементів, що існують у клітині автономно, тобто поза хромосомами. Це плазмід, які є типовими репліконами (О.П. Пехов, 1979). Як і всі реплікони вони мають здатність до саморегуляції незалежно від механізмів, які регулюють розмноження бактеріальної хромосоми. Вважається, що генетична інформація, яка міститься у плазмідах та інших позахромосомних елементах (помірних фагах, транспозомах, 15-елементах), не є обов'язковою для життєдіяльності бактерій. Проте ці елементи розширюють можливості існування бактеріального виду.

Головними властивостями плазмід є їхня здатність до автономної реплікації і трансмісивність (здатність до самопередавання). Переважна більшість плазмід складається із трьох груп генів: ділянки ДНК, яка відповідає за автономну реплікацію плазмід в клітині; генів, що забезпечують можливість перенесення плазмід із однієї клітини в іншу, і генів, котрі визначають корисні властивості для клітини-хазяїна. Детальне вивчення молекулярної природи плазмід та їхніх функцій в бактеріальній клітині дозволило успішно використовувати їх у генній інженерії.

Відомо, що первинним генетичним матеріалом, з якого безпосередньо побудовані хромосоми і гени, а також бактеріальні плазмід і мігруючі елементи (транспозоми, 15-елементи), є ДНК. Вторинним генетичним матеріалом є РНК.

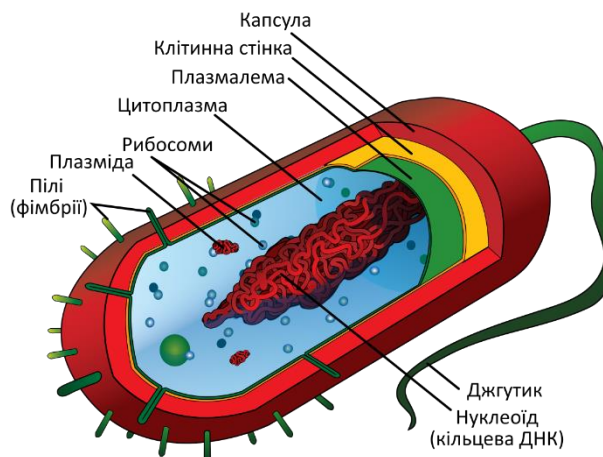


Рисунок 12 – Будова прокаріотичної клітини

Перед поділом клітини ДНК її геном реплікується і до кожного ланцюга добудовується комплементарний ланцюг. Обидві нові подвійні спіралі ДНК складаються з однієї початкової і однієї заново синтезованої нитки. Таке подвоєння ДНК дозволяє зберігати генетичну інформацію клітини. Для реалізації цієї генетичної інформації ДНК спочатку транскрибується в молекули мРНК, які взаємодіють із рибосомами.

Питання для самоконтролю

1. Опишіть морфологію мікроскопічних грибів, як тип мікроорганізмів, що використовуються у мікробіологічній промисловості.
2. Надайте характеристику періодичного глибинного методу культивування мікроорганізмів.
3. Проаналізуйте процес стерилізації поживного середовища для мікробіологічного синтезу

Лекція № 37

Тема 3.2 Віруси. Загальна характеристика вірусів. Класифікація вірусів. Структура вірусів. Хімічний склад вірусів

Віруси — неклітинні форми живих організмів, які складаються з нуклеїнової кислоти (ДНК або РНК) і білкової оболонки, зрідка включаючи інші компоненти (ферменти, ліпідні оболонки тощо). Віруси займають екологічну нішу облигатних внутрішньоклітинних паразитів, розмножуючись тільки в живих клітинах, вони використовують їхній ферментативний апарат і перемикають клітину на синтез зрілих вірусних часток — віріонів.

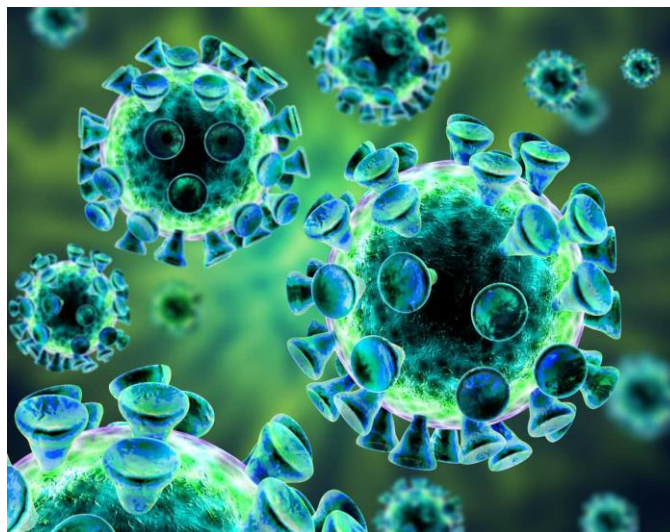


Рисунок 12 – Віруси

Вірусологія — галузь науки, яка вивчає властивості вірусів людини, тварин, рослин, бактерій, грибів і процеси, котрі вони спричиняють в організмі чутливих хазяїв, розробляє методи діагностики, лікування та профілактики вірусних інфекцій. Внаслідок розвитку вірусології були досягнуті певні успіхи в боротьбі з деякими вірусними інфекціями. Наприклад, у XX столітті на земній кулі завдяки масовій вакцинації населення була ліквідована віспа. Існує, однак, ряд вірусних захворювань, невиліковних на сучасному етапі розвитку науки, найвідоміше з них — ВІЛ-інфекція.

Внутрішньоклітинний паразитизм вірусів також виявився не абсолютним критерієм, що відмежовує їх від інших мікроорганізмів. Внутрішньоклітинними паразитами є не тільки віруси, але й деякі бактерії (гонококи, менингококи) і найпростіші (малярійний плазмодій). З розвитком знань про віруси були знайдені більш надійні критерії, наприклад існування у вірусів тільки однієї із двох нуклеїнових кислот, у той час як в усіх інших мікроорганізмів є обидві нуклеїнові кислоти — дезоксирибонуклеїнова (ДНК) і рибонуклеїнова (РНК).

Іншою унікальною властивістю вірусів є відсутність у них власних білоксинтезуючих систем. Синтез вірусних білків здійснюється білоксинтезуючим апаратом клітини — клітинними рибосомами, які зв'язуються з вірусними іРНК. Віруси вводять у клітину лише свою генетичну інформацію, яка успішно конкурує із клітинною інформацією, незважаючи на мізерно малі розміри вірусних геномів (на 5-6 порядків менших за молекулярними масами, ніж геном еукаріотичної клітини). Тому й рівень паразитизму у вірусів інший, ніж у бактерій або найпростіших: на відміну від внутрішньоклітинного паразитизму останніх паразитизм вірусів визначається як генетичний паразитизм, а віруси розглядаються як генетичні паразити. Яскравим прикладом генетичного паразитизму є здатність ряду вірусів інтегрувати (поєднуватися) із клітинним геномом. У цьому випадку вірусні гени перетворюються в групу

клітинних генів і позначаються як провірус. Стадія інтеграції, крім помірних ДНК-вмісних фагів, характерна для онкогенних ДНК-вмісних вірусів і вірусу гепатиту В. Ця стадія обов'язкова для великої групи РНК-вмісних вірусів — ретровірусів. Однак і в тому випадку, коли інтеграції не відбувається й вірусний геном перебуває в автономному стані, виникнення інфекції обумовлене конкуренцією вірусного й клітинного геномів.

До унікальних властивостей вірусу відноситься його спосіб розмноження, який різко відрізняється від способів розмноження всіх інших клітин і організмів (бінарний поділ, брунькування, утворення спор). Віруси не ростуть, і їхнє розмноження позначається як диз'юнктивна (роз'єднана) репродукція, що підкреслює роз'єднаність у просторі (на території клітини) і часу синтезу вірусних компонентів (нуклеїнових кислот і білків) з наступною зборкою і формуванням віріонів.

У зв'язку з вищевикладеним не раз виникали дискусії із приводу того, що ж таке віруси — живе або не живе, організми або не організми. Безумовно, віруси мають основні властивості всіх інших форм життя — здатністю розмножуватися, спадковістю, мінливістю, пристосованістю до умов зовнішнього середовища; вони займають певну екологічну нішу, на них поширюються закони еволюції органічного миру на землі. Тому до середини 40-х років сформувалося уявлення про віруси як про найбільш прості мікроорганізми. Логічним розвитком цих поглядів було введення терміна «віріон», що позначав позаклітинний вірусний індивідуум. Однак з розвитком досліджень по молекулярній біології вірусів стали накопичуватися факти, що суперечать уявленню про віруси як організми.

Відсутність власних білоксинтезуючих систем, диз'юнктивний спосіб репродукції, інтеграція із клітинним геномом, існування вірусів сателітів і дефектних вірусів, феноменів множинної реактивації й комплементациї — усе це мало вкладається в уявлення про віруси як організми. Уявлення це ще більше втрачає зміст, коли ми звернемося до вірусоподібних структур — плазмід, віроїдів і агентів типу збудника скріпи.

Французькі дослідники А. Львофф, Р. Хорн і П. Турньє в 1962 р. запропонували проект універсальної класифікації вірусів з ієрархічною структурою та сформулювали чотири основні її критерії:

- 1) тип нуклеїнової кислоти (ДНК або РНК);
- 2) симетрія нуклеокапсиду (спіральна, ікосаедральна або складна);
- 3) наявність чи відсутність зовнішньої ліпопротеїнової оболонки;
- 4) діаметр нуклеокапсиду для вірусів із спіральною симетрією та кількість капсомерів для вірусів з ікосаедральною симетрією.

Міжнародний комітет із номенклатури вірусів прийняв за основу фізико-хімічні критерії, запропоновані А. Львоффом і співавторами, проте вирішив тимчасово відмовитися від всеосяжної класифікації, вважаючи за доцільне створювати її поступово в міру накопичення достатньої інформації. У період

з 1966 по 1970 рр. створено багато груп вірусів, частину яких виведено в ранг роду. Наступний період з 1971 по 1985 рр. характеризувався формуванням родин і підродин та розробкою більш детальних критеріїв для таксономічних груп. Наприкінці 1990-х рр. деякі родини вірусів об'єднано в порядки.

Сучасна класифікація вірусів є універсальною для вірусів хребетних, безхребетних, рослин, грибів, найпростіших і бактерій. Вона ґрунтується на фундаментальних властивостях вірусів, із яких провідними є ознаки, що характеризують нуклеїнову кислоту, морфологію, стратегію геному (механізм реплікації) та антигенні властивості.

В основу сучасної класифікації вірусів покладено такі основні критерії:

- 1) тип нуклеїнової кислоти (ДНК або РНК), її структура (кількість ниток);
- 2) наявність зовнішньої ліпопротеїнової оболонки;
- 3) стратегія вірусного геному (механізм реплікації);
- 4) розмір і морфологія віріона, тип симетрії, кількість капсомерів;
- 5) форми генетичних взаємодій;
- 6) спектр сприйнятливих хазяїв;
- 7) патогенність, у тому числі цитопатичні зміни та утворення тілець включень у клітинах;
- 8) географічне поширення;
- 9) спосіб передавання;
- 10) антигенні властивості.

На основі перелічених ознак віруси поділяються на порядки, родини, підродини, роди і види. Формування родин проводиться за критеріями, викладеними в пунктах 1 і 2 (тип нуклеїнової кислоти та наявність зовнішньої ліпопротеїнової оболонки). Поділ на підродини, роди і види ґрунтується на основі решти ознак. Порядки об'єднують родини вірусів з подібною організацією геному та єдиним механізмом реплікації.

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

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

Проте більшість вірусів має ще одну оболонку – суперкапсидну, яка містить ліпіди. Вона пронизана вірусспецифічними білками-глікопротеїдами, які на поверхні оболонки утворюють особливі структури, що називаються шипами. Такі віруси називають складними або оболонковими. Структурною одиницею

суперкапсидної оболонки є пепломер. До них належать віруси сказу, герпесу, грипу, енцефалітів та ін.

Віріони характеризуються поняттям симетрії. Тип симетрії залежить від способу укладки нуклеїнової кислоти і, відповідно, розташування капсомерів навколо неї. Виділяють ізометричний (або кубічний), спіральний та змішаний типи симетрії. Кубічний тип характеризується тим, що капсомери утворюють багатогранник (найчастіше ікосаедр – 20-гранник). У віріоні зі спіральною симетрією молекула нуклеїнової кислоти закручена разом із капсомерами в тугу спіраль. Такий тип симетрії мають віруси мозаїчної хвороби тютюну, грипу, кору, епідемічного паротиту та ін. Комбінований тип симетрії спостерігається у деяких бактеріофагів. При цьому головка бактеріофага має кубічний тип симетрії, а нуклеопротеїд, розміщений у хвості, укладається спірально. Форма вірусів може бути найрізноманітнішою: паличкоподібна (віруси мозаїчної хвороби тютюну), кулеподібна (віруси сказу), сферична (віруси грипу, папіломи), кубоїдальна (віруси натуральної віспи), головчаста або сперматозоїдна (бактеріофаги), ниткоподібна (віруси Ебола, віруси бактерій).

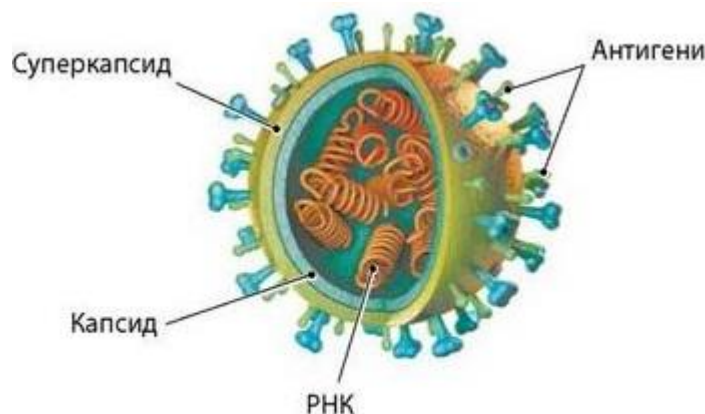


Рисунок 13 – Структурна будова вірусів

До складу усіх вірусів обов'язково входять нуклеїнові кислоти і білки, у складних вірусів в суперкапсиді можуть бути вуглеводи та ліпіди. Нуклеїнові кислоти вірусів Вірусні нуклеїнові кислоти надзвичайно різноманітні.

Вірусні ДНК бувають дво- і одноланцюгові, лінійні та кільцеві. У дволанцюгових ДНК інформація закодована на обох нитках. ДНК папілома- та поліомавірусів надспіралізована (нагадує хромосому). У гепаднавірусів плюс-нитка ДНК дефектна (на 15-60% коротша). У поксвірусів обидва ланцюги ДНК замкнені на кінцях. У інших вірусів (адено, асфар-, герпес-, іридовіруси) лінійна ДНК набуває кільцевої форми під час реплікації. У парво- та цирковірусів ДНК одноланцюгова: у цирковірусів +ДНК, у парво – в основному мінус-ДНК, хоч у частини віріонів можуть бути плюс-нитки.

Вірусні РНК бувають одно- та двонитчастими, полярними („плюс” та „мінус”), фрагментованими, лінійними та кільцевими. До РНК-геномних вірусів з позитивним геномом (плюс-РНК, або +РНК) відносяться астро-, каліці-, пікорна-, артері-, корона-, флаві-, тога-, нодавіруси. Така РНК виконує роль інформаційної РНК. У геномі ретровірусів дві однакових +РНК (диплоїдний геном). До РНК-геномних вірусів з негативним геномом (-РНК) відносяться арена-, борна-, бунья-, філо-, параміксо-, ортоміксо- та рабдовіруси. Фрагментована РНК у арена-, бунья- та ортоміксовірусів.

Кільцевої форми РНК набуває у буньявірусів та іноді у аренавірусів. Двонитчаста РНК у рео- та бірнавірусів. Білки вірусів Білки вірусів поділяють на дві групи: структурні та неструктурні. Структурні – входять до складу віріонів і бувають капсидні та суперкапсидні. Їх кількість коливається від одного (вірус тютюнової мозаїки), 2-3 у фагів, 3-4 у парвовірусів, 7 у вірусів грипу, 10-14 у аденовірусів, 20-32 у герпесвірусів, 30-33 у поксвірусів. Капсидні білки складаються в білкові субодиниці (капсомери) з 1-6 молекул поліпептидів і формують капсомер. Такі білки мають властивість до самоскладання. Завдяки принципу субодиничності у побудові капсиду досягається величезна економія генетичного матеріалу, при самоскладанні капсиду закладена можливість контролю за повноцінністю вірусних білків: дефектні та чужорідні відкидаються автоматично.

Питання для самоконтролю

1. Опишіть морфологію актиноміцетів як тип мікроорганізмів, що використовуються у мікробіологічній промисловості.
2. Охарактеризуйте тип безперервного глибинного методу культивування мікроорганізмів у відкритих системах.
3. Надайте характеристику мікроорганізмам – збудникам псування харчових продуктів, зокрема спороутворювальним аеробам і маслянокислим бактеріям.

Лекція 38

Взаємозв'язок вірусів з клітинами хазяїна – репродукція вірусів.

Культивування вірусів. Віруси бактрій

Віруси є внутрішньоклітинними паразитами, які розмножуються у клітинах хазяїна. Це обумовлює певні особливості патогенезу вірусних інфекцій. Взаємодія вірусу з клітиною хазяїна складається з кількох етапів: 1. Адсорбція на чутливих клітинах за допомогою так званих прикріплювальних білків, які входять до складу капсиду або суперкапсиду. Віруси грипу адсорбуються на мембранах клітин епітелію дихальних шляхів, віруси гепатиту — на гепатоцитах, сказу — на нервових клітинах, ВІЛ — на Т-лімфоцитах. 2. Проникнення в

клітину завдяки піноцитозу або при злитті мембран. 3. "Роздягання" вірусу (депротеїнізація) — звільнення від капсиду та суперкапсиду.

Починається після прикріплення до чутливих рецепторів на плазматичній мембрані і триває до злиття з ядерною мембраною. Взаємодія вірусного генома з геномом клітини хазяїна (можлива індукція реплікації вірусів, або вірогенія). 4. Реплікація вірусних нуклеїнових кислот та синтез вірусних білків. 5. Збирання (самоскладання) віріонів. У складних віріонів це відбувається на мембранах клітин, компоненти клітини стають компонентами зовнішньої оболонки вірусів. 6. Вихід віріонів із клітини. Може бути вибухоподібним унаслідок лізису чи розпаду клітини або тривалим (брунькування) і супроводжується ушкодженням мембран клітин.

Тип взаємодії вірусного генома з геномом клітини хазяїна лежить в основі патогенезу вірусних інфекцій. Результатом цієї взаємодії може бути виникнення трьох форм інфекції: продуктивної, абортивної та інтегративної (вірогенії).

Продуктивна інфекція. Вірус функціонує в клітині автономно, його репродукція не залежить від репродукції клітин генома хазяїна і закінчується появою численного потомства. При цьому синтез клітинних білків припиняється, синтезуються лише вірусні білки. Проявляється типовою гострою або безсимптомною (інапаратною, або атиповою) інфекцією. Закінчується звільненням організму від збудника, одужанням і формуванням набутого імунітету.

Абортивна інфекція — порушення репродукції вірусів на одному з етапів, унаслідок чого утворюються дефектні інтерферуючі частини вірусу (Ді-частки). Процес може перериватися в ранній стадії, інфекція не виникає.

Інтегративна інфекція (вірогенія) — вбудовування вірусної нуклеїнової кислоти в геном клітини хазяїна, репродукція вірусу пов'язана з репродукцією клітини хазяїна. Вірогенія характерна для ДНК-вмісних вірусів (віруси герпесу, вітряної віспи, інфекційного мононуклеозу та гепатиту, аденовіруси та ін.) та РНК-вмісних вірусів, які мають зворотну транскриптазу, — ретровірусів (ВІЛ, онковіруси). Вірус, вбудований у геном, називають провірусом. Під час поділу клітин вірусна нуклеїнова кислота передається дочірнім клітинам. Клітина при цьому зберігає свої функції. Одночасно продовжується репродукція збудника (кількість інфікованих клітин поступово збільшується), що зумовлює виникнення повільних інфекцій, які характеризуються тривалим (багато років) інкубаційним періодом і тривалим перебігом.

Хвороба прогресує і закінчується летально. Іноді вірусний геном може вийти з хромосоми, і репродукція вірусів може відбуватися за типом продуктивної інфекції. Це спричинює загострення хронічних інфекцій. Вірогенія зумовлює тривале збереження (персистенцію) вірусу в організмі хазяїна. Наслідки персистенції важко передбачити. Вони залежать від багатьох факторів, у тому числі від локуса хромосоми, в якому відбувається інтеграція вірусної нуклеїнової кислоти. Якщо вона вбудовується біля промотора хромосоми, може

виникнути пухлина. Віруси гепатиту В якраз і вбудовуються біля промотора хромосоми гепатоцитів, що призводить до розвитку первинного раку печінки.

Для культивування вірусів використовують культури клітин, курячі ембріони і чутливих лабораторних тварин. Ці ж методи використовують і для культивування рикетсій і хламідій - облігатних внутрішньоклітинних бактерій, які не ростуть на штучних поживних середовищах.

Культури клітин. Культури клітин готують з тканин тварин або людини. Культури поділяють на первинні (неперевітаєміє), полуперевітаєміє і перещеплюваних.

Приготування первинної культури клітин складається з декількох послідовних етапів: подрібнення тканини, роз'єднання клітин шляхом трипсінізації, відмивання отриманої однорідної суспензії ізольованих клітин від трипсину з подальшим суспендіруванням клітин в живильному середовищі, що забезпечує їх зростання, наприклад в середовищі 199 з додаванням телячої сироватки крові. Перещеплюваних культури на відміну від первинних адаптовані до умов, що забезпечує їм постійне існування *in vitro*, і зберігаються протягом декількох десятків пасажів.

Перещеплюваних одношарові культури клітин готують із злорякісних і нормальних ліній клітин, що володіють здатністю тривалий час розмножуватися *in vitro* в певних умовах. До них відносяться злорякісні клітини HeLa, спочатку виділені з карциноми шийки матки, Нер-3 (з лімфоїдної карциноми), а також нормальні клітини амніону людини, нирок мавпи і ін. До полуперевітаєміє культурам ставляться диплоїдні клітини людини. Вони являють собою клітинну систему, що зберігає в процесі 50 пасажів (до року) диплоїдний набір хромосом, типовий для соматичних клітин використуваної тканини. Диплоїдні клітини людини не зазнають злорякісного переродження і цим вигідно відрізняються від пухлинних. Про розмноження (репродукції) вірусів в культурі клітин судять по цитопатичної дії (ЦПД), яке може бути виявлено мікроскопічно і характеризується морфологічними змінами клітин. Характер ЦПД вірусів використовують як для їх виявлення (індикації), так і для орієнтовною ідентифікації, т. Е. Визначення їх видової приналежності.

Один з методів індикації вірусів заснований на здатності поверхні клітин, в яких вони репродукуються, адсорбувати еритроцити - реакція гемадсорбції. Для її постановки в культуру клітин, заражених вірусами, додають суспензію еритроцитів і після деякого часу контакту клітини промивають фізіологічним розчином хлориду натрію. На поверхні уражених вірусами клітин залишаються прилипли еритроцити.

Інший метод - реакція гемаглютинації (РГ). Застосовується для виявлення вірусів в культуральної рідини культури клітин або хоріоналлантоїсної або амніотичної рідини курячого ембріона.

Бактеріофаги, або фаги (буквально з грецької — пожирачі бактерій) — це віруси, що вражають бактерії. Як і інші віруси, фаги є паразитами — вони не

можуть розмножуватися без клітини господаря. При цьому фаги строго спеціалізовані: вони розпізнають і вражають лише певний вид бактерії, іноді — окремі штами одного виду.

Бактеріофаги — найчисленніша та найпоширеніша на Землі група вірусів. Бактерії мешкають повсюдно, а скрізь, де є бактерії, є і фаги: в ґрунті, водоймах, рослинах, в травному тракті людей і тварин та ін. Чим багатший субстрат мікроорганізмами, тим більше в ньому фагів. Разом з тим, фаги можуть існувати й за відсутності мікроба-господаря, зберігаючи здатність до інфікування протягом десятиліть. Бактеріофаги — важливий природний інструмент контролю чисельності мікроорганізмів.

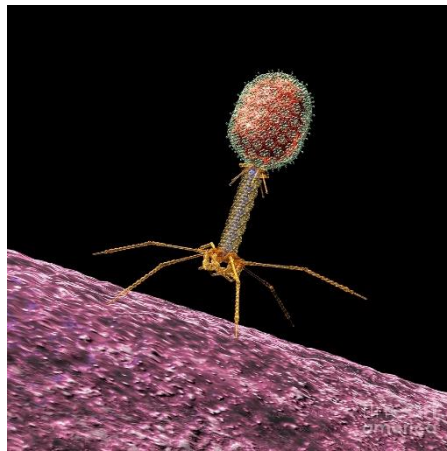


Рисунок 14 – Бактеріофаг

Типова фагова частка складається з голівки та хвоста. У голівці міститься генетичний матеріал (ДНК або РНК). Хвостовий відросток забезпечує взаємодію фага з бактерією-господарем. Він має вигляд порожнистої трубки, по якій генетичний матеріал потрапляє з голівки фага в цитоплазму бактерії. На кінці хвоста у багатьох фагів розташована базальна пластинка з тонкими довгими нитками, які допомагають вірусу закріпитися на поверхні бактерії. За характером взаємодії із бактерією фаги поділяють на літичні та помірні. Перші швидко вбивають (лізують) бактерію-господаря, тоді як другі можуть мешкати в інфікованій бактерії в прихованій формі.

Питання для самоконтролю

1. Опишіть морфологію дріжджів як тип мікроорганізмів, що використовуються у мікробіологічній промисловості.
2. Надайте характеристику безперервного глибинного методу культивування мікроорганізмів у замкнутих системах.
3. Проаналізуйте відкриті системи безперервного культивування.

Лекція 39

Мікрофлора організму людини. Вплив на мікроорганізми факторів навколишнього середовища. Особливості мікробіоценозів ґрунтів

Нормальна мікрофлора тіла здорової людини (еумікробіоз) - сукупність мікробіоценозів усіх її біотопів. Вона сформувалась у процесі еволюції. Найбільш чисельні мікробіоценози утворились на шкірі, в ротовій і носовій порожнинах, піхві, товстому кишечнику. Але внутрішнє середовище макроорганізму (кров, лімфа, тканини) не містить мікробів. Порівняно мало їх у бронхах, легенях, жовчних і сечовивідних шляхах, на слизовій ока.

Кількість і видовий склад мікрофлори залежить від віку, статі, клімату, режиму харчування, мікробіоценозів навколишнього середовища, індивідуальних санітарно-гігієнічних навичок тощо. Особливу роль у змінах нормальних мікробіоценозів відіграють антибіотики, інші хіміотерапевтичні та імунологічні препарати. Вони спричиняють сильний селективний тиск на популяції окремих бактерій, знищуючи чутливі особини і сприяють розвиткові стійких варіантів. Боротьба з такими резистентними мікроорганізмами є однією з актуальних проблем сучасної медицини.

Лікарям будь-якого профілю і середнім медпрацівникам потрібно знати якісний і кількісний склад мікрофлори окремих біотопів, щоб раціонально призначати антимікробні препарати.

Організм людини населяють понад 500 видів бактерій, біля 50 видів вірусів і понад 20 видів найпростіших. Загальна кількість мікроорганізмів досягає 10^{14} , що в 10 разів більше, ніж всіх клітин макроорганізму. Нормальна мікрофлора людського тіла поділяється на дві групи: 1) постійна, специфічна для даного біотопу (автохтонна); 2) тимчасова, занесена з інших біотопів хазяїна (алохтонна) або з інших біотопів довкілля (заносна).

Важливою особливістю нормальної мікрофлори є її індивідуальна й анатомічна стабільність. При контакті бактерії можуть передаватись від однієї людини до іншої. Але, як правило, не приживаються. Вивчення індивідуальної автофлори має важливе значення при підборі екіпажів космічних кораблів, підводних човнів, полярних експедицій, які працюють у тісному контакті один із одним і повинні бути сумісними за характером мікрофлори. Обмін мікроорганізмами між індивідуумами відбувається також в яслах, дитячих садках, школах, казармах, лікарнях та ін. У ряді випадків такий обмін може бути небезпечним, так як багато видів індивідуальної мікрофлори однієї людини можуть бути умовно-патогенними для іншої. Анатомічна стабільність полягає в тому, що мікрофлора, наприклад, ротової порожнини не приживається на шкірі тощо. Якийсь час вона, звичайно, може знаходитись у новому біотопі, але постійно не зберігається.

Плід стерильний, поки знаходиться в утробі матері. Під час пологів організм дитини контамінується мікрофлорою пологових шляхів -

лактобактеріями, стрептококами, кишковими паличками. Пізніше в організм новонародженого мікроби потрапляють з рук, дихальних шляхів матері та обслуговуючого персоналу, а також із навколишнього середовища. Індивідуальна постійна мікрофлора формується з 10 дня. На слизових оболонках дитини з'являються нитчасті мікроорганізми, які своєю сіткою покривають поверхню. На ній адсорбуються бактерії, які утворюють особливу біоплівку, що складається з муцину та полісахаридів мікробного походження. Величезна кількість мікроорганізмів у плівці розташовується не поодиночки, а у вигляді мікроколоній. Товщина біоплівки у різних біотопів неоднакова. Найбільшу товщину вона має на слизовій оболонці товстого кишечника, найменшу - на шкірі та в носовій порожнині.



Рисунок 15 – Мікрофлора людини

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

Фізичні фактори

Волога. Активна життєдіяльність бактерій можлива лише в умовах достатнього зволоження. Надходження поживних речовин у клітину та виділення продуктів обміну в зовнішнє середовище можливі тільки при

достатньому вмісті води. Найменша кількість води, при якій ще можливий розвиток прокаріотів, становить 20-30 % загальної маси організму. Менш вимогливі до умов зволоження цвілеві гриби. Вони можуть розвиватися навіть тоді, коли вміст вологи в субстраті дорівнює 10-15 %. Більшість мікробів витримують висушування непогано. Наприклад, туберкульозні палички після висушування зберігають свою життєздатність протягом кількох місяців, а спори сибірки — упродовж 10 років. Молочнокислі бактерії і дріжджові гриби зберігають життєздатність після висушування протягом кількох років. Ця властивість мікробів широко використовується, наприклад, для отримання сухих заквасок, які застосовуються при виготовленні різних молочнокислих продуктів тощо, а також для зберігання музейних мікробів. При цьому культури піддаються заморожуванню в умовах вакууму (ліофілізація).

Температура. Мікроорганізми не регулюють температуру свого тіла, а тому існування їх визначається температурою оточуючого середовища. Розрізняють три основні температурні зони, які мають вирішальне значення для розвитку бактерій: мінімум, оптимум і максимум. Найменша температура, при якій можуть розвиватися дані мікроби, називається мінімальною. Найвища температура, при якій ці самі організми ще можуть жити, називається максимальною. Між двома крайніми точками є температура, при якій прокаріоти розвиваються найкраще. Така температура дістала назву оптимальної. Кардинальні температурні точки для деяких мікроорганізмів наведено в табл. 3. Ці точки, хоча і є характерними для кожного виду мікроба, але вони можуть змінюватися під впливом інших чинників зовнішнього середовища.

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

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

Осмотичний тиск. Важливе значення для життя прокаріотів має осмотичний тиск, величина якого визначається концентрацією розчинених речовин у середовищі. Цитоплазматична мембрана бактеріальної клітини регулює проникнення в клітину і вихід із неї води і розчинених речовин,

зберігаючи при цьому осмотичну рівновагу. Надходження води з довкілля у клітину можливе лише в тому випадку, коли осмотичний тиск в клітині буде більшим, ніж тиск зовнішнього розчину. При високому осмотичному тиску в середовищі клітина втрачає здатність поглинати з нього воду, що згубно діє на неї. Нормальний осмотичний тиск у клітині визначається в межах від 3 до 7 атм.

Хімічні фактори

Хімічний склад середовища істотно впливає на ріст і розвиток прокариотів. Від нього залежить надходження поживних речовин, і він визначає реакцію середовища, її окислювально-відновний потенціал. Реакція середовища (рН). Ступінь кислотності або лужності середовища справляє великий вплив на життя мікроорганізмів. Фізіологічне діючою основою в кислих і лужних субстратах є концентрація гідроксильних і водневих іонів (OH^- і H^+). До найбільш кислих природних середовищ належать гарячі кислі джерела і їхні ґрунти, рН у них іноді може сягати 1. З цих місць виділено бактерії, які водночас є ацидофілами і термофілами. У природі також трапляються такі лужні джерела і озера, рН яких може сягати 8—11. З них виділено бактерії, які можуть добре рости при рН = 8–10 (ціанобактерії та інші). Від реакції середовища залежить активність ферментів, яка є основою біохімічної активності мікробів. Наприклад, відомо, що ті самі дріжджі у кислому середовищі утворюють при зброджуванні цукру багато етилового спирту і незначну кількість гліцерину. В лужному субстраті, натомість, вони утворюють із цукру велику кількість гліцерину і дуже мало етанолу.

Біологічні фактори

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

Мікробіоценоз – найважливіший функціональний компонент, що зумовлює редукційний процес, утворення гумусу, інтенсифікацію ферментативної активності, ґрунтове дихання, сприяє збільшенню кількісного складу амінокислот. Лісові ґрунти, на відміну від степових, утворилися в процесі тривалої взаємодії з лісовою рослинністю, наземні залишки якої не зникають, а залишаються у вигляді лісового опаду. Цим обґрунтовується те, що питанню мінералізації лісового опаду, процесам утворення гумусу в нинішній час приділяється велика увага.

В лісових екосистемах, де вертикальна ярусність організації мікробних ценозів досліджена найбільш детально, центром основної діяльності мікроорганізмів по переробці рослинного опаду є лісова підстилка і

примикаючий до неї гумусований ґрунтовий горизонт. У цих шарах зосереджені всі групи ґрунтових мікроорганізмів, що найтіснішим чином пов'язані в єдині детритні трофічні ланцюги.

Питання для самоконтролю

1. Поясніть закономірності вияву факторів, як впливають на життєдіяльність мікроорганізмів.
2. Опишіть технологію хемостатного безперервного культивування мікроорганізмів.
3. Надайте оцінку і характеризуйте основних представників мікроорганізмів, які є збудниками харчових токсикоінфекцій.

Лекція № 40

Тема 4.2. Використання мікроорганізмів людиною. Використання дріжджів. Виробництво вина. Виготовлення пива. Виготовлення хлібопродуктів

Деякі види дріжджів з давніх пір використовуються людиною при приготуванні хліба, пива, вина, квасу та ін. У поєднанні з перегонкою процеси бродіння лежать в основі виробництва міцних спиртних напоїв. Корисні фізіологічні властивості дріжджів дозволяють використовувати їх в біотехнології. На даний момент їх застосовують у виробництві ксиліту, ферментів, харчових добавок, для очищення від нафтових забруднень. Також дріжджі широко використовуються в науці як модельні організми для генетичних досліджень і в молекулярній біології. Пекарні дріжджі були першими з еукаріот, в яких була повністю визначена послідовність ДНК генома.

Важливим напрямом досліджень є вивчення пріонів у дріжджів. Виробництво перегнаного спирту молодше, ніж неперегнаних спиртних напоїв, але і його коріння втрачається в століттях. Для здобуття напою, що містить 40% (за об'ємом) спирту, потрібна перегонка. Її і сьогодні здійснюють в перегінних апаратах, що є модифікаціями пристрою, запропонованого в 1830 р. Кофі і що носить його ім'я. Відмінності в сортах спиртних продуктів залежать в основному від природи сировини, а також від того, чи піддавався кінцевий продукт витримці.

У спиртному виробництві використовуються придатні для цієї мети штами *Saccharomyces*. Крупні спиртові заводи завжди ведуть свою власну культуру дріжджів в спеціальних середовищах. Вибір штаму дріжджів при виробництві спирту визначається їх продуктивністю в особливих умовах бродячого сусла. Бродіння повинне йти активно з утворенням спирту в кількості, близькій до теоретичної межі.

Виробництво вина на відміну від пивоваріння до самого останнього часу було засноване на використанні місцевих дріжджів дикого типу. Єдиною обробкою винограду до віджимання, щоб сік не темнів - було обкурювання сірчистим газом. Крім того, сірчистий газ пригнічує діяльність дріжджів не винного походження; це дозволяє винним дріжджам, які менш чутливі до нього, без перешкод здійснювати бродіння.

Колись, саме за допомогою диких дріжджів і здійснювали спиртове бродіння. У тих районах, де виробництвом вина почали займатися недавно, широко застосовуються дріжджові закваски. Це пов'язано з тим, що необхідна мікрофлора може бути відсутня, а інокуляція стандартною культурою дріжджів дозволяє одержувати вино з потрібними властивостями. Крім того, кількість сірчистого газу, що використовується, обмежена законом і це спонукає застосовувати дріжджові культури-закваски. Винороби не дуже покладаються на дріжджі дикого типу, якщо немає впевненості, що конкуренція з боку не винних дріжджів не пригнічена.

Використання заквасок дає ряд переваг: скорочується лаг-період розмноження дріжджів, утворюється продукт із відомими властивостями, зменшується ймовірність появи небажаного смаку, оскільки в бродінні не беруть участь дикі дріжджі. У майбутньому використання спеціально створених штамів усе більше буде розширюватися: це гарантує необхідні смакові якості вина. Змішані закваски дозволяють одержувати продукцію з повним букетом, що неможливо при роботі з індивідуальними штамми.

Подальші успіхи виноробства будуть визначатися використанням більш ефективних штамів винних дріжджів і комерційних препаратів дріжджових заквасок. Це дозволить одержувати вина особливої якості.

Етапи виготовлення пива:

1. Приготування сусла. Спочатку ячмінний солод дроблять, але зерна не повинні перетворитися в однорідну масу. У складі сусла обов'язкові великі і дрібні крупинки. Це називається солодовим помелом. В різних сортах пива співвідношення великих і дрібних частинок істотно відрізняється.

Потім солодовий помел змішують з водою. Цей процес називається «затиранням», а отримана суміш – затором. При додаванні води ферменти ячменю починають розщеплювати крохмаль на солодовий цукор. Для прискорення ферментації пивовари затор нагрівають до температури 76°C.

Далі готове сусло фільтрують. Проварений затор переливають з котла в спеціальне сито, закрите знизу. В такому стані затертий солод знаходиться деякий час, поки на дні не осядуть тверді частинки, які називаються дробиною. Коли сито відкривають, крізь нього і шар дробини починає просочуватися чисте рідке сусло, яке збирається в спеціальний котел для подальшого варіння.

2. Варіння сусла

Отримане на попередньому етапі сусло нагрівають, доводять до кипіння і додають хміль. Кількість шишок залежить від сорту пива і уподобань майстра. У кожній рецептурі використовується різна кількість хмелю.

Варіння сусла займає 2-3 години. В ході цього процесу всі мікроорганізми гинуть і руйнуються ферменти, тому подальші хімічні реакції неможливі. Саме на даному етапі пивовари домагаються наперед встановленої щільності початкового сусла, яке на етикетці готового продукту позначається як щільність пива.

Далі зварене сусло фільтрують від залишків хмелю і дають йому відстоятися. На дні випадуть найдрібніші частинки, які не вдалося відфільтрувати на попередньому етапі. Також на деяких заводах використовується прискорена технологія видалення небажаних залишків центрифугою.

3. Бродіння. Чисте сусло надходить через труби на дно бродильних чанів, які називають циліндроконічними танками. Після того як сусло повністю охолоне, в чан додають дріжджі. Для пива верхового бродіння перед додаванням дріжджів сусло охолоджують до температури 18-22°C, для пива низового бродіння – до 5-10°C.

Через добу після закладки дріжджів на поверхні бродильного чана утворюється товстий шар піни. Це означає, що дріжджі успішно почали перетворювати цукор в вуглекислий газ і спирт. В ході бродіння виділяється багато тепла, тому сусло потребує постійного охолодження, температура повинна бути стабільною.

В ході бродіння пивовари стежать за концентрацією вуглекислоти в чанах. При досягненні максимально допустимого рівня газ відводять по спеціальних трубах. Бродіння зупиняється після того, як весь цукор, що міститься в пиві, розклався дріжджами.

4. Дозрівання. На попередніх етапах вийшло молоде нефільтроване пиво, яке потребує подальшого дозрівання (не стосується пшеничних сортів). Для дозрівання потрібні великі ємності з нержавіючої сталі, сам процес триває від кількох тижнів до чотирьох місяців.

5. Фільтрація. Після дозрівання пиво проходить ще одну фільтрацію двома різними фільтрами, призначеними для очищення від великих і дрібних частинок. Після цього пінний напій стає абсолютно прозорим і готовим до розливу.

6. Розлив. На заключному етапі виробництва пива його переливають в тару різних видів. Перед розливом в пляшки, кеги, барила їх ретельно миють, потім видаляють повітря, яке потрапило всередину. Пиво є швидкопсувним алкогольним напоєм, який вимагає стерильних умов. Без стерильності термін зберігання готового продукту дуже невеликий і помітно погіршується його смак.

При розливі в скляну тару пляшки попередньо пастеризують – повільно нагрівають до температури 65°C, що істотно подовжує термін зберігання пива.

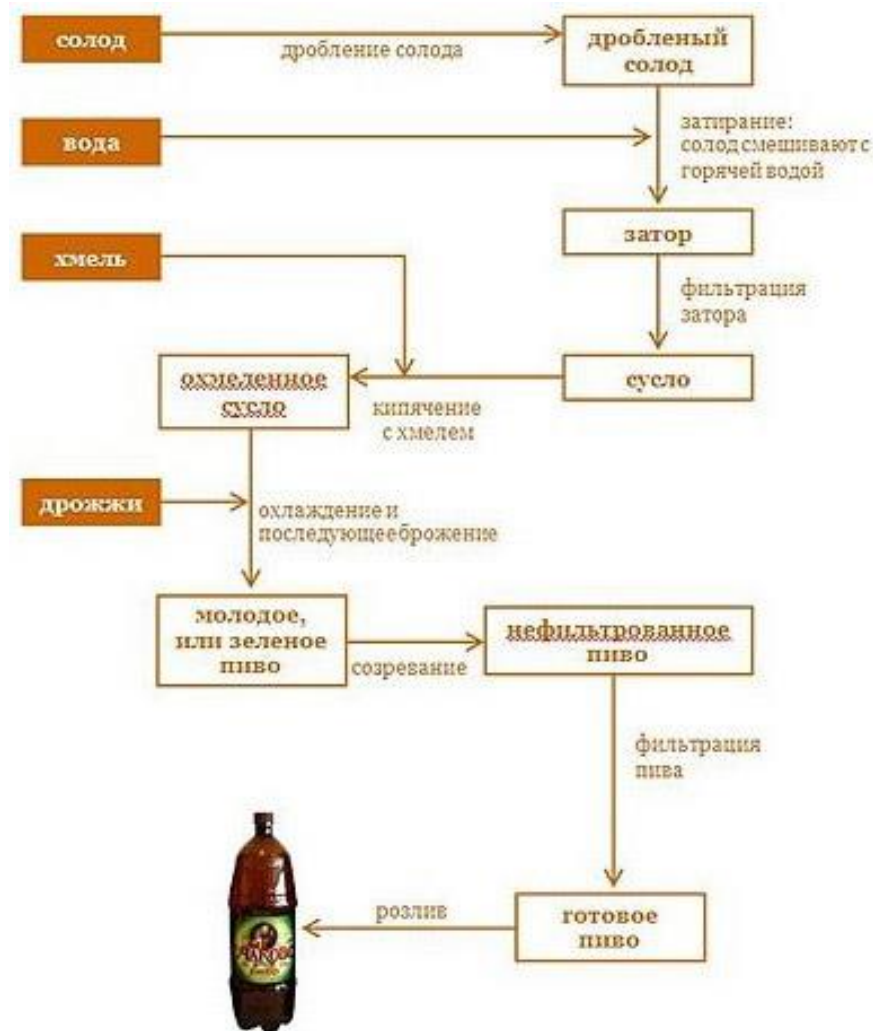


Рисунок 16 – Схема виробництва пива

Виготовлення хлібопродуктів

Виробництво хлібобулочних виробів можна розділити на такі етапи: зберігання і підготовка сировини до виробництва, приготування тіста, оброблення тіста, випікання тістових заготовок, охолодження і зберігання хліба. Кожен з цих етапів включає низку технологічних операцій, які забезпечують виготовлення виробів. Послідовність і сутність основних технологічних операцій представлені на функціональній схемі хлібопекарського виробництва. Зберігання та підготовка сировини до виробництва. Борошно зберігають в ємностях (силосах} або мішках. Перед подачею на виробництво при необхідності окремі партії змішують для поліпшення хлібопекарських властивостей, просіюють через сита для відділення сторонніх домішок і

пропускають через пристрій для видалення металоманітних домішок. Сіль зберігають в мішках або насипом в окремому приміщенні. перед використанням її розчиняють у воді в Солерозчинники. на сучасних хлібозаводах сіль зберігають у вигляді концентрованого розчину. Розчин фільтрують, відстоюють і подають на виробництво. Пресовані дріжджі зберігають у холодильнику. Перед використанням їх подрібнюють.

У спеціальній дріжджемішалці готують суспензію дріжджів у теплій воді, яку використовують для приготування тіста. Вода зберігається в баках холодної та гарячої води. Перед приготуванням тесту холодну і гарячу воду змішують у певній пропорції для доведення до необхідної температури. Цукор зберігають у мішках. При підготовці до виробництва його розчиняють у воді і фільтрують. Цукор зберігають у мішках. При підготовці до виробництва його розчиняють у воді і фільтрують. Тверді жири зберігають у ящиках або бочках, рідкі - в ємностях. Перед використанням тверді жири розтоплюють і проціджують через сита певного розміру. Проціджують також рідкі жири і масла. Яйця дезінфікують, розбивають і проціджують через сито.

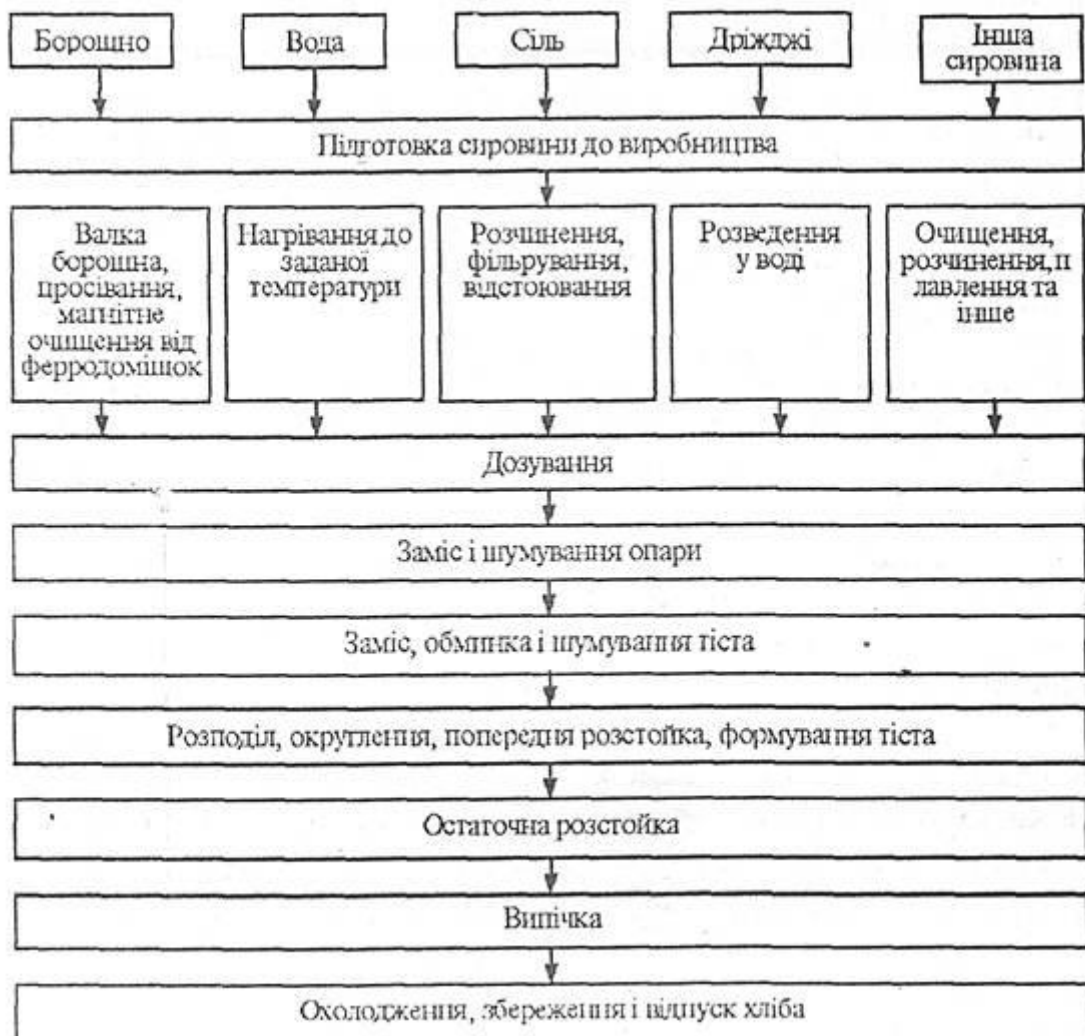


Рисунок 17 – Схема виробництва хлібопродуктів

З підготовленої сировини за встановленою рецептурою готують тісто. Пшеничне тісто готують в одну (безопарний спосіб) або у дві фази (опарний спосіб). При безопарному способі тісто замішують відразу з усього сировини. У місильний апарат відповідно до рецептури дозується борошно, вода, дріжджова суспензія, сіль, іншу сировину і проводиться змішування до отримання однорідної маси. Приготоване тісто певний час бродить. При опарному способі спочатку з частини борошна, води, всіх дріжджів готують опару.

Після дозрівання до неї додають решту борошна і води, сіль, а також іншу сировину і замішують тісто. Під час бродіння дріжджові клітини зброджують цукор борошна з утворенням спирту і діоксиду вуглецю, який розпушує тісто, воно збільшується в об'ємі, набуває необхідні фізичні властивості, в ньому накопичуються ароматичні речовини. Житні сорти хліба готують в основному двофазним способом. Спочатку готують закваску, потім на ній замішують тісто. Обробка тесту. Ця операція включає поділ тіста на шматки певної маси, передавання їм певної форми; вистоювання сформованих тестових заготовок в спеціальних шафах.

Під час вистоювання тестові заготовки розпушуються, збільшуються в обсязі. Ця операція забезпечує хороший обсяг хліба, формування структури пористості. Випікання. Після вистоювання тестові заготовки випікають у хлібопекарських печах різної конструкції. Під час випікання внаслідок теплофізичних, мікробіологічних, біохімічних, колоїдних, хімічних процесів тестова заготівля перетворюється в хліб із забарвленою скоринкою і ароматним ароматом. Охолодження і зберігання. Випечений хліб укладають в ящики або лотки, які розміщують на вагонетках або в контейнерах, при цьому відбраковують вироби, які не відповідають стандартам.

Питання для самоконтролю

1. Поясніть специфіку впливу хімічних факторів на життєдіяльність мікроорганізмів.
2. Обґрунтуйте необхідність контролю виробництва продуктів мікробіологічного синтезу.
3. Обґрунтуйте значення чистоти музейної культури, що надходить на мікробіологічне виробництво.

Лекція № 41

Використання молочнокислих бактерій. Використання маслянокислих бактерій

Для виробництва та консервації різних продуктів широко використовуються молочнокислі бактерії. Значення їх особливо велике в молочному справі.

Молочна промисловість

Для виробництва кефіру і кумису застосовують культури, які, крім молочнокислого, забезпечують і спиртове бродіння. Закваску готують на основі кефірних зерен, які є джерелом обширного спільноти ще до кінця не вивчених мікроорганізмів (молочнокислі палички і стрептококи, мікрококи і дріжджі). У процесі виготовлення сирів молочнокислі бактерії працюють на першому етапі, забезпечуючи згортання казеїну, потім їх змінюють пропіоновокислі мікроорганізми. Для отримання кисломолочного масла у вершки вносять культуру *Str. lactis*, *Str. cremoris* і *Leuconostoc cremoris*. При додаванні в гомогенезірованне молоко *L. bulgaricus* і *Str. thermophilus* отримують йогурт. У виробництві сиру і сирів німецької групи в молоко вносять закваски, що містять *Str. lactis* або *L. bulgaricus* і *Str. thermophilus*. А для виготовлення твердих сирів на стадії дозрівання використовують культуру *L. casei* і *Str. lactis*.

Виноробство

При виробництві вин широко застосовують три роду лактобактерій: *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*. В основному це гетероферментативні коки, що забезпечують бродіння по яблучно-молочному типом в висококислотних винах. При цьому вони зброджують яблучну кислоту і не зачіпають інші хімічні компоненти вина. Лактобактерії можуть зіпсувати напій, викликавши молочнокисле бродіння. В результаті з'являються такі вади вина, як прогоркание, ожиріння, розкладання винної кислоти.

Хлібопечення

У хлібі виявляють близько 70 смакових та ароматичних речовин, серед них 28 кислот, 11 спиртів, 28 карбонільних сполук, 6 ефірів, метилмеркаптан і аміак. Молочнокислі бактерії беруть участь в утворенні більшості з них. Найбільше значення лактобацили мають для виробництва житнього хліба. Закваска надає тісту пружність, розпушує його і сприяє підйому. Кислотність тесту - важливий показник якості. При виробництві пшеничного хліба лактобактерії відіграють незначну роль, в основному процес залежить від дріжджових культур. Основними складовими молочнокислих заквасок для підготовки тесту є *L. brevis*, *L. plantarum* і *L. fermenti*.

Консервування м'яса і риби

Молочнокислі бактерії застосовуються при виготовленні салями і сервелат, інших ковбасних виробів, при дозріванні риби слабкого засолу. Молочна кислота прискорює процес консервування та надає продуктам цінні смакові якості.

Маслянокислі бактерії — група бактерій, що входить до роду *Clostridium*, який налічує понад 100 видів. Маслянокислі бактерії є суворими анаеробами (організми, які живуть в середовищі, що не містить вільного кисню), можуть розвиватися тільки в умовах, де виключений доступ повітря — всередині головки сиру при герметичній упаковці продукту. Другою особливістю

маслянокислих бактерій є їх чутливість до кислої реакції середовища, тобто, вони можуть розвиватися лише там, де не накопичується молочна кислота. Маслянокислі бактерії можуть зброджувати молочний цукор або солі молочної кислоти.[1] Ці солі зазвичай накопичуються в сирах при дозріванні, коли кількість вільної молочної кислоти знижується. Тривалий час маслянокислі бактерії вважалися непатогенними, але в останні роки виявлено штами, здатні утворювати токсини.

Основним місцем існування маслянокислих бактерій є ґрунт, а також силос. Особливо багато їх у силосі низької якості, тому молоко корів, яких ним годують непридатне для виготовлення сирів. Спори маслянокислих бактерій потрапляють в молоко із частинками корму (силосом) або через гній (він спорами маслянокислих бактерій забруднює зовнішнє середовище на молочних фермах, вим'я корів тощо). При низькому рівні гігієни на фермах спори із зовнішнього середовища обов'язково потрапляють в молоко. Під дією маслянокислих бактерій продукти набувають гіркового смаку і неприємного запаху. Разом з тим, масляна кислота, яка утворюється під дією маслянокислих бактерій, потрібна для деяких промислових цілей.

Питання для самоконтролю

1. Поясніть специфіку впливу біологічних факторів на життєдіяльність мікроорганізмів.
2. Обґрунтуйте необхідність очищення стічних вод у мікробіологічному виробництві.
3. Проаналізуйте основні типи мікроорганізмів, які є збудниками харчових токсикозів.

Лекція № 42

Виробництво лікарських препаратів. Властивості деяких антибіотиків

Біотехнологічні лікарські засоби - це лікарські препарати, призначені для профілактики, лікування або діагностики *in vivo*, які розвивають не фармакологічну, а біологічну активність. Вони мають ряд суттєвих відмінностей від хіміко-синтетичних лікарських засобів.

Діюча речовина біотехнологічних препаратів має біологічне походження і є похідним від живих клітин, володіє складною гетерогенною молекулярною структурою. Вихідним субстратом служать клітини тваринного походження або мікроорганізми (бактерії типу *E.coli*, дріжджі та ін.), Використовуються їх клітинні і субклітинні структури. Істотною відмінністю біотехнологічних лікарських засобів є те, що в них використовується природна здатність до метаболізму.

Для їх отримання проводиться ізоляція і зміна геномної ДНК вихідного продукту таким чином, що він отримує нову, неспецифічну для даного виду

здатність до біосинтезу, яка і використовується в лікарських засобах. В першу чергу тут слід назвати створення генно-модифікованих організмів для отримання рекомбінантних терапевтичних протеїнів.

Під назвою «антибіотики» об'єднані речовини, що утворюються мікроорганізмами і вибірково пригнічують ріст інших мікроорганізмів. Антибіотики належать до самих різних класів хімічних сполук. Відомо близько 14 000 природних антибіотиків, утворених мікроорганізмами. З них в медичній практиці застосовують близько 200. За механізмом дії розрізняють антибіотики: а) інгібітори утворення клітинної стінки бактерій б) інгібітори білкового синтезу в) інгібітори синтезу нуклеїнових кислот г) інгібітори функцій цитоплазматичної мембрани мікробної клітини Антибіотики продукуються пліснявими променистими грибами актиноміцетами, стрептоміцин, еубактеріями і ін.

Особливе місце серед лікарських засобів займають ферменти і вакцини, які є потужним засобом боротьби з інфекціями.

Слід зазначити роль промислової біотехнології в нетрадиційних рішеннях отримання енергії. Потужним потенційним джерелом енергії є рослинна біомаса тваринницьких, промислових і комунальних відходів. Перетворення біомаси в біогаз і біоетанол під дією метаногенних бактерій дає можливість реалізувати 50-80% потенційної енергії без забруднення атмосфери і без відходів (відходи слугують високоякісним добривом).

Основні типи вакцин, ліцензованих для клінічного використання, містять живі ослаблені, убиті або інактивовані мікроорганізми. Менша кількість препаратів заснована на очищених компонентах мікроорганізмів, а зовсім нечисленна група - на білках, синтезованих за допомогою методу рекомбінантних ДНК. Профілактичне або лікувальну дію сироваток засноване на містяться в сироватці антитіла (АТ). Сироватки використовуються при отруєнні отрутами мікробів або тварин. Також сироватки можуть бути використані і для діагностичних цілей, для створення діагностичних наборів.

Хімічна будова вивчена у більшості антибіотиків і покладена в основу їх класифікації. Згідно М.М. Шемякіну і А.С. Хохлову, розрізняють антибіотики ациклічної і ароматичної будови, хінони, кисеньвмісні гетероциклічні з'єднання, пеніциліни, стрептоміцини, антибіотики-поліпептиди, антибіотики зі встановленою і невстановленою сумарною формулою. З хімічною структурою антибіотика пов'язано багато його властивостей: розчинність, стійкість, токсичність.

Важливою особливістю антибіотиків є вибірковість дії: кожен з них активний тільки по відношенню до певної групи мікроорганізмів і інгібує строго певні біохімічні функції. Наприклад, пеніцилін діє тільки на зростаючі клітини грампозитивних бактерій, тоді як грамнегативні до нього менш чутливі. У цьому полягає одна з істотних відмінностей антибіотиків від загальнобіологічних отрут - сулеми, миш'яку, фенолу, які пригнічують життєдіяльність будь-якого організму, що вступив з ними в контакт.

Характер дії антибіотиків різний. Більшість з них бактеріостатичні, тобто затримують ріст чутливих мікробів; інші, маючи бактерицидну властивість, викликають загибель відповідних мікробів. Значно менше антибіотиків, що

мають бактеріолітичні властивості. Ефективність антибіотиків залежить від дози і тривалості дії: короткочасна дія в малих дозах затримує ріст, а вищі концентрації і тривала дія викликають загибель тих же мікробів.

Питання для самоконтролю

1. Поясніть специфічність обміну речовин у мікроорганізмів.
2. Поясніть на прикладі виробництва лимонної кислоти специфіку промислового отримання посівного матеріалу.
3. Охарактеризуйте клас дріжджів, як продуцентів мікробіологічного синтезу.

Лекція № 43

Мікробіологічні методи боротьби з комахами-шкідниками. Отримання ферментів та інших хімічних речовин

Біотехнологічний метод заснований на використанні засобів і заходів, що порушують поведінку, репродуктивні функції й розвиток комах та хвороб. За механізмами дії його поділяють на три основні групи:

- регуляція поведінки комах за допомогою феромонів;
- порушення росту й розвитку комах;
- порушення генетичної структури популяцій та репродукції потомства.

При цьому використовують біологічноактивні речовини, які не виявляють токсичної дії на шкідників, а тільки порушують механізм внутрішньовидової взаємодії й програми їх розвитку на певному етапі онтогенезу. Прикладом біотехнічного методу може бути статева стерилізація комах (альфа-, бета-, гамма-променями або хімічними речовинами). При спарюванні самок із обробленими самцями відкладаються нежиттєздатні яйця.

Біологічний метод застосування заходів щодо забезпечення популяцій хижих комах і кліщів, розмножених у біолабораторіях і на біофабриках; використання препаратів, виготовлених на основі патогенних мікроорганізмів. Він включає три основні групи заходів:

- охорону та збільшення чисельності природних популяцій хижаків, паразитів та хвороботворних мікроорганізмів;
- спеціальні способи практичного застосування ентомо- і акарифагів (для боротьби з кліщами та шкідниками);
- використання патогенних мікроорганізмів.

Порівняно з іншими методами боротьби, біологічний має ряд переваг: більша тривалість дії, нешкідливий для людей і теплокровних тварин, а також для бджіл та інших корисних комах. Як приклад, своєчасне раннє луцення після збирання зернових колосових створює сприятливі умови для розмноження хижого жука малашки, який знищує личинок пшеничного

трипса, а міжрядні розпушення ґрунту на просапних культурах сприяють корисній діяльності хижих жужелиць, які є ентомофагами дротяників, несправжніх дротяників та інших ґрунтових шкідників. З хижих комах на овочевих культурах слід оберігати від знищення жуків-сонечок (кокцинеллід) та їх личинок. Невидима оком комаха трихограма (довжина тіла 1 мм) відкладає свої яйця в яйця плодожерок і совок. Личинки трихограми, що розвиваються, харчуються вмістом яєць шкідників і спричинює їх загибель.

Хімічний метод – полягає в знищенні шкідників і хвороб завдяки застосуванню токсичних для них речовин. Він побудований на використанні отруйних речовин, які потрапляючи різними шляхами в організм шкідників і збудників хвороб призводять до їх загибелі.

Використання хімічних засобів дає змогу розв'язати наступні проблеми:

1. Профілактика можливої шкоди в тих випадках, коли важко визначити чисельність шкідників та хвороб. До профілактичних заходів належить обробка насіння і передпосівне внесення отрутохімікатів у ґрунт.

2. Обмеження розмноження полівольтних видів (більше двох поколінь кліщів та попелиць) для запобігання шкоди у наступних поколіннях.

3. Запобігання загрози від шкідника і хвороби в наступному році. Захист цукрових буряків від звичайного і сірого довгоносика шляхом обробки яйцекладних сумок у пізновесняний період, хоча жуки уже не становлять небезпеки для посівів поточного року.

4. Безпосередній захист посівів або врожаю при виявленні шкідників і хвороб у великій кількості.

Всі основні джерела отримання ферментів можна розділити на три основні групи:

1. Тканини тварин як відхід м'ясопереробної промисловості. Перш за все, це багаті ферментами підшлункова залоза і слизова оболонка шлунка.

2. Деякі рослини. Наприклад, такі гідролітичні ферменти, як папаїн і рицин витягають відповідно з соку динного і інжировим дерева, з ячменю - амілазу.

3. Мікроорганізми (бактерії, дріжджі, мікрогриби). Вибір джерела отримання того чи іншого ферменту передбачає врахування низки вимог, що пред'являються до чистоти одержуваного препарату, потреби в ньому, вартості сировини, проведення процесів виділення і очищення готового продукту. З усіх перерахованих вище джерел ферментів найбільше практичне значення мають мікроорганізми - продуценти ферментів. Їх широке використання обумовлено, перш за все, їх доступністю, можливістю організувати більш ефективно промислове виробництво на відносно дешевій сировині та управління, процесом біосинтезу, використовуючи, різні продуценти ферментних препаратів. Використання мікроорганізмів значно розширило коло одержуваних ферментних препаратів зрізними спектром дії.

Тільки з їх допомогою вдалося отримати такі ферменти, як целюлази і глюкозоізомерази. Як продуцентів ферментів, як правило, вибирають ті штами-мутанти, отримані шляхом спрямованої селекції, які забезпечують максимальний вихід цільового продукту при використанні стандартного

устаткування. При цьому штами-мутанти отримують як традиційним шляхом з використанням таких широковідомих методів впливу, як опромінення УФ світлом, γ - і рентгенівськими променями, обробкою клітин різними хімічними агентами (етіліміном, діметилсульфатом, гідроксиламіном, діазометаном, оксидом азоту та ін.), Зміною температури і величини рН, так і методами генної інженерії. Як продуцентів ферментів можуть використовуватися різні мікроорганізми.

Для отримання амілолітичних і протеолітичних ферментних препаратів в промисловості найбільш часто використовують різні штами гриба роду *Aspergillus* бактерій *Bacillus*. У бактерій коротше цикл розвитку, на їх основі легше отримувати мутанти. Технологія отримання ферментних препаратів мікробним синтезом обов'язково включає в себе стадію промислового культивування відповідного мікроорганізму.

В умовах промислового виробництва значна кількість продуцента отримують одним з наступних двох способів: - культивування на поверхні твердих поживних середовищах (поверхневий спосіб вирощування продуцента), - культивування відповідного продуцента в великому обсязі рідкої фази, що містить всі необхідні для нормального росту і розвитку мікроорганізму поживні речовини (глибинний спосіб вирощування продуцента).

Питання для самоконтролю

1. Надайте характеристику основних джерел вуглецю для живлення мікроорганізмів.
2. Поясніть особливості етапу підготовки меляси до зброджування на прикладі виробництва лимонної кислоти.
3. Обґрунтувати ефективність приготування кисломолочних продуктів, виготовлених на заквасках термофільних молочнокислих бактерій. Продемонструйте прикладами.

Лекція 44

Використання мікроорганізмів в біологічних тест-системах. Патогенні мікроорганізми

Під біологічної тест-системою розуміють біологічний об'єкт або сукупність біологічних об'єктів, які в певних умовах можуть давати сталий, заздалегідь відомий відгук (відповідь) на вплив екологічних факторів. Відгук біологічної тест-системи повинен бути стабільним. Для уніфікації та стандартизації біологічних тест-систем використовують заздалегідь охарактеризовані тест-об'єкти, такі, наприклад, як спеціальні штами мікроорганізмів, культури мікроводоростей певних видів з чітко описаними параметрами виживання, рівнем фотосинтезу, культури ракоподібних, які виживають і розмножуються в суворо визначених умовах, і ін .

Як тест-об'єктів часто використовують різні види риб певної статі і віку, а також лінійних (отриманих з однієї пари споріднених особин, генетично охарактеризованих) тварин, як правило, мишей і щурів. Останнім часом в експериментах, що вимагають значного обсягу біологічного матеріалу, наприклад крові, використовують лінії міні-свиней.

Всі тест-об'єкти повинні існувати і розмножуватися в суворо визначених умовах. Але якщо тест-об'єкт отримано безпосередньо з навколишнього середовища, він повинен бути повністю охарактеризований, також як екосистема, в якій він жив. У деяких тест-системах в якості біологічного об'єкта, як уже зазначалося вище, може бути використаний внутрішньоклітинний біологічний матеріал: мітохондрії, ендоплазматичний ретикулум, окремі ферменти, РНК. Для цих випадків існують докладні методики отримання матеріалу, опису біологічних об'єктів, з яких цей матеріал був отриманий.

Відгук біологічної тест-системи повинен бути стабільний, а його рівень контролюємо. Для контролю функціонування біологічної тест-системи використовуються відповідні стандартні впливи. Так, наприклад, для перевірки чутливості культури дафній на дії токсикантів використовується калібрування смертності особин в культурі за допомогою розчинів мідного купоросу. Найпростішим відгуком біологічної тест-системи є виживання її об'єктів в ході впливу випробуваного екологічного чинника.

Проте відгук біологічної тест-системи може бути найрізноманітнішим. Вважається, що найбільш чутливі біологічні тест-системи дають позитивний відгук на вплив. Наприклад, дуже чутливі тест-системи, засновані на тому, що біологічний об'єкт уникає впливу екологічного чинника. Тварини спочатку йдуть від впливу несприятливого фактора, намагаються його уникнути, а вже потім, при неможливості уникнення впливу в біологічному об'єкті починаються патологічні зміни і в результаті відбувається його загибель.

Мікроорганізми, які викликають захворювання організму - господаря (людини, тварини, рослини) називаються патогенними.

Патогенні види мікробів у процесі свого еволюційного розвитку пристосувалися до паразитичного типу живлення в тканинах і рідинах організму хазяїна. Інфікований організм відповідає на проникнення патогена відповідними реакціями, які виражаються у виявленні симптомів хвороби, а також у різних захисних пристосуваннях. Крім патогенних, існують і так звані умовно патогенні мікроорганізми, які входять до нормальної мікрофлори тіла людини. До патогенних мікроорганізмів належать багато представників бактерій, грибів, мікоплазм, рикетсій, вірусів і найпростіших.

Патогенність є видовою ознакою мікроорганізму, яка характеризує його здатність спричиняти інфекційне захворювання. Іншими словами, це комплекс хвороботворних властивостей даного мікроба, які виробились у боротьбі за існування і пристосування до паразитичного способу життя в людському, тваринному або рослинному організмах. Патогенні мікроорганізми

характеризуються своєю специфічністю. Кожен представник різних видів патогенних мікробів може зумовити якусь певну хворобу з характерними тільки для неї ознаками. Специфічність інфекції є важливою ознакою; вона проявляється у вибірковості ураження тканин і органів, локалізації збудників, клінічній картині хвороби тощо.

Патогенність визначається вірулентністю, агресивністю і токсиногенністю. Вірулентність означає ступінь патогенності даної культури (штаму) мікроба. Якщо патогенність є сталою видовою ознакою мікроорганізму, то вірулентність є його індивідуальною властивістю, яка може змінюватися під впливом природних умов (світла, температури, висушування тощо). Вірулентність можна підвищувати і ослаблювати пасажуванням на сприйнятливих лабораторних тваринах, трансформацією, трансдукцією, дією антимікробних препаратів, пересіванням з одного на інше поживне середовище тощо. Механізм підвищення і зниження вірулентності докладно ще не з'ясовано. Однак слід зазначити, що штучне зниження вірулентності патогенних мікроорганізмів широко використовують при виготовленні вакцин.

Для характеристики патогенних мікробів встановлено одиницю вірулентності — *Del* (*Dosis certata letalis*), яка являє собою таку кількість живих мікробів, від якої повинні загинути всі 100 % тварин, що їх взято для дослідження. *Dim* (*Dosis letalis minima*) — найменша кількість живих мікроорганізмів, які спричиняють за певний час загибель близько 80 % відповідних лабораторних тварин. Порівняно об'єктивним критерієм щодо інших одиниць вірулентності може бути *LD50*-доза, що спричинює загибель 50 % заражених тварин. Сублетальна доза може вбивати приблизно від 5 до 10 % досліджуваних тварин. Певна кількість патогенних мікроорганізмів, що здатна викликати інфекційне захворювання, дістала назву інфікуючої дози (*I*). Наприклад, такою дозою, встановленою в дослідженнях на добровольцях для *Shigella dysenteriae*, є 10—100 бактеріальних клітин збудника дизентерії. Вірулентність патогенних мікробів пов'язана з їхньою агресивністю, токсиногенністю, інвазійністю, капсулоутворенням та іншими властивостями.

Агресивність — це здатність бактерій проникати в організм, закріплюватися в ньому, розмножуватися і поширюватися. Матеріальною основою агресивності є фактори інвазивності, агресини, полісахариди тощо. Фактори інвазивності, або поширення, — це низка ферментів, що їх виробляють мікроби й за допомогою яких проникають в організм і поширюються в ньому.

В 1970 р. було виділено із рідини набряклого корбункула сибірки речовину, яка при додаванні до не смертельної дози збудника цієї хвороби спричиняла загибель тварини. Ці речовини назвали агресинами. Бактеріальні полісахариди капсул і клітин, наприклад стрепто-коків, пригнічують фагоцитоз і разом з агресинами сприяють закріпленню і розмноженню бактерій в інфікованому організмі. Токсини. В основі патогенності переважної більшості мікробів — збудників інфекційних хвороб людського, тваринного і рослинного

організмів — лежить їхня токсиногенність, тобто здатність утворювати токсини — різні за хімічним складом речовини, які можуть зумовлювати специфічні розлади і навіть смерть інфікованого організму. За характером утворення, токсини поділяють на екзо-токсини й ендотоксини, які відрізняються між собою за хімічною структурою.

Екзотоксини — це отруйні речовини, що виділяються в середовище мікробною клітиною як продукт життєдіяльності. Вони є простими білками, які характеризуються різко вираженою токсичністю, тобто у дуже малих дозах токсично діють на сприйнятливі організми. Екзотоксини характеризуються вибірковістю — здатністю вражати окремі тканини й органи організму; наприклад, дифтерійний ендотоксин уражає надниркові залози і серцевий м'яз, а правцевий — рухові нервові клітини.

Питання для самоконтролю

1. Надайте характеристику основних джерел азоту для живлення мікроорганізмів.
2. Поясніть особливості етапу зброджування розчину м'яса поверхневим способом на прикладі виробництва лимонної кислоти.
3. Надайте характеристику класу незавершених грибів з акцентуванням на молочній плісняві, кладоспоріумі та катенулярії.

Перелік джерел інформації

1. Климнюк С.І., Ситник І.О. «Практична мікробіологія» - Тернопіль: Укрмедкнига, 2004 – 440с
2. Дейнека С.Є «Мікробіологія». – Чернівці: Медик, 2003 – 312с
3. Протченко П.З. Загальна мікробіологія, вірусологія, імунологія, О:2002-298с,
4. Борисов Л.Б. –Мікробіологія та вірусологія , Х, 2005- 736с.